



**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**MİKROTİANIN OTOJEN KOSTAL KIKIRDAK İLE
ONARIMI VE MİKROTİK HASTALARDA
MOLEKÜLER GENETİK ARAŞTIRMA**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Berker BÜYÜKGÜRAL
PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Mehmet BEKERECİOĞLU**

Kasım-2009

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**MİKROTİANIN OTOJEN KOSTAL KIKIRDAK İLE
ONARIMI VE MİKROTİK HASTALARDA
MOLEKÜLER GENETİK ARAŞTIRMA**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Berker BÜYÜKGÜRAL
PLASTİK REKONSTRÜKTİF VE ESTETİK CERRAHİ
ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Mehmet BEKERECİOĞLU

TEZ ONAY SAYFASI

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
PLASTİK REKONSTRÜKTİF ve ESTETİK CERRAHİ ANABİLİM DALI

MİKROTIANIN OTOJEN KOSTAL KIKIRDAK İLE ONARIMI VE MİKROTİK HASTALARDA MOLEKÜLER GENETİK ÇALIŞMA

Dr. Berker BÜYÜKGÜRAL

19.11.2009

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

Prof. Dr. Ayşe Balat
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. Mehmet MUTAF
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

Doç. Dr. Mehmet BEKERECİOĞLU
Tez Danışmanı

TEZ JÜRİSİ

1. Prof. Dr. Mehmet MUTAF
2. Prof. Dr. Ahmet BALIK
3. Prof. Dr. Orhan BÜYÜKBEBECİ
4. Doç. Dr. Mehmet BEKERECİOĞLU
5. Yrd. Doç. Dr. Arif TÜRKMEN

ÖNSÖZ

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi kliniğinde, uzmanlık eğitimim süresi boyunca bilgi ve deneyimleri ile bize hem cerrahi sanatını, hem de hastaya insani ve mesleki açıdan yaklaşmayı öğreten, sağladıkları imkanlarla kaliteli bir eğitim ortamı sunan değerli hocalarımdan anabilim dalı başkanımız sayın Prof. Dr. Mehmet MUTAF, sayın tez hocam Doç. Dr. Mehmet BEKERECİOĞLU ve sayın Yrd. Doç. Dr. Arif TÜRKMEN'e saygılarımı ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım süresince bilgi ve deneyimlerini aktarmayı esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Sacide PEHLİVAN'a şükranlarımı sunarım. Eğitimimde emeği geçen Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi, Ortopedi, Anestezi, Kulak Burun Boğaz, Çocuk Cerrahi, Beyin Cerrahi ve Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine teşekkür ederim. 5 yıllık asistanlık süresi boyunca birlikte çalıştığım asistan arkadaşlarıma, servis ve ameliyathane hemşirelerine, personellerine teşekkür ederim.

Yetişmem için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan ve bana her konuda destek olan sevgili aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Dr. Berker BÜYÜKGÜRAL

Gaziantep - 2009

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER	II
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
KISALTMALAR	VI
TABLO LİSTESİ	VIII
RESİM LİSTESİ	IX
ŞEKİL LİSTESİ	XI
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. KONJENİTAL KULAK DEFORMİTELERİ	4
2.2. Kulak Anatomisi	5
2.2.1. Kulağın Vasküler Dolaşımı	7
2.2.2. Lenfatik Drenaj	8
2.2.3. Kulağın Duyusal İnnervasyonu	9
2.2.4. Kulağın Kasları	10
2.3. EMBRİYOLOJİ	11
2.4. MİKROTİA	12
2.4.1. Epidemiyoloji	12
2.4.2. Sınıflandırma	14
2.4.3. Etiyoloji	15
2.4.3.1. Genetik Faktörler	16
2.4.3.2. Çevresel Faktörler	17
2.4.4. Mikrotia İle İlişkili Konjenital Anomaliler ve Sendromlar	18
2.4.4.1. Okülo-Aurikülo-Vertebral Spektrum	18
2.4.4.2. Goldenhar Sendromu	19
2.4.4.3. Treacher Collins Sendromu	20
2.4.4.4. Di-George Sendromu	21
2.4.4.5. Nager Sendromu	21
2.4.4.6. Lacrimo-Aurikülo-Dento-Dijital Sendrom	21
2.4.5. Tanı	21
2.4.6. Orta Kulak Rekonstrüksiyonu ve Kanal Plastisi	22
2.4.7. Tedavi	23
2.4.7.1. Kulak Rekonstrüksiyonu Tarihçesi	23
2.4.7.2. Cerrahinin Zamanlaması	25
2.4.7.3. Cerrahi Teknikler	25
2.4.7.3.1. Otojen Kosta Kıkırdığı ile Rekonstrüksiyon	25
2.4.7.3.2. Komplikasyonlar	31
2.4.7.3.2.1. Donör Alan Komplikasyonları	31
2.4.7.3.2.2. Kulak Rekonstrüksiyon Bölgesi Deformiteleri	32
2.4.7.3.3. Protetik/osteointegrasyon ile Kulak Rekonstrüksiyonu	33
2.4.7.3.4. Kompozit-Otojen/Alloplastik	34
Rekonstrüksiyon	34

2.4.7.3.5. Kulak Rekonstrüksiyonunun Geleceği	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM	37
3.1.CERRAHİ TEKNİK	37
3.1.1. Ameliyat Öncesi Hazırlık	37
3.1.2. Ameliyat Tekniği	37
3.1.2.1. Birinci Seans	37
3.1.2.2. İkinci Seans	39
3.1.2.3. Üçüncü Seans	40
3.2. ÖRNEKLERİN SEÇİMİ	41
3.2.1. Tuzla Çöktürme Yöntemi ile DNA İzolasyonu	41
3.2.2. Tuzla Çöktürme Yöntemi ile Kandan DNA İzolasyonu	
İşleminde Kullanılan Araç ve Kimyasallar	42
3.3. DNA AMPLİFİKASYONU	43
3.3.1. PCR Kimyasal Konsantrasyonları	43
3.3.2. PCR Koşulları	44
3.4. PCR AMPLİFİKASYONU SONUÇLARININ GÖRÜNTÜLENMESİ VE	
DEĞERLENDİRİLMESİ	45
3.4.1. Agaroz Jel Elektroforezi (Yatay Jel Elektroforezi)	45
3.4.2. Nandenatüre Poliakrilamid Jel Elektroforez Yöntemi ile SSCP	
Bantlarının Gösterilmesi	46
3.4.3. SSCP Analizi	46
3.4.4. Poliakrilamid Jelde Gümüş Nitrat Boyama ile DNA Bantlarının	
Görüntülenmesi	47
3.5. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME	48
4. BULGULAR	49
5. TARTIŞMA	52
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	56
7. KAYNAKLAR	57
8. EKLER	71

ÖZET

MİKROTİANIN OTOJEN KOSTAL KIKIRDAK İLE ONARIMI ve MİKROTİK HASTALARDA MOLEKÜLER GENETİK ARAŞTIRMA

Dr. Berker BÜYÜKGÜRAL

**Uzmanlık Tezi, Plastik Rekonstrüktif ve
Estetik Cerrahi Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mehmet BEKEREÇİOĞLU
Kasım 2009, 72 sayfa**

Mikrotia, küçük kulak anlamındadır. Mikrotia deformitesi kulağın belirli anatomik kısımlarının yokluğundan tam yokluğuna (anotia) kadar değişen klinik görünümleri ile karşımıza çıkabilir. Mikrotia, tanımındaki sadeliğinin aksine henüz tam olarak aydınlanmamış etiyolojisi ve tedavisindeki cerrahi zorluklar nedeniyle halen üzerinde çalışılması gereken konulardan bir tanesidir. Görülme sıklığı 0.8-4.2/10.000 arasındadır. Mikrotia etiyolojisi multifaktöriyeldir. Farklı genetik ve çevresel faktörler suçlanmaktadır. Mendelyan herediter formlarında otozomal dominant/resesif geçiş ve kromozomal aberasyonlar (sapma) rapor edilmiştir. Brankial arkların gelişiminde önemli rol oynadığı bilinen hox genleri ile ilgili farklı hayvan deneyleri yapılmışsa da izole mikrotiaya sebep olan gen bölgesi henüz belirlenememiştir.

Çalışmamızda mikrotianın genetik etyolojik predispozisyonu ve ailesel geçişini araştırmak amacıyla, kliniğimize başvuran mikrotialı hastalar ve 1.derece yakınlarından alınan kan örneklerinde PCR-SSCP yöntemini kullanarak FGF3 geni promotor polimorfizmleri araştırılması planlanmıştır. Bu hastalardan genetik farklılık saptananlar ve saptanmayanlar arasındaki klinik özelliklerin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Kontrol grubu olarak mikrotia ya da sendromik başka bir hastalık öyküsü olmayan aynı yaş grubundan 21 kişi seçildi.

Çalışmaya dahil edilen 21 mikrotialı hastadan poliakrilamid jel elektroforezinde yürüme farklılıkları gözlemlendi. 3 hastada FGF3 geninin c.254delT bölgesinde, 2 hastada p.Leu6Pro bölgesinde farklılık saptandı. Hasta DNA'ları dizi analizi yaptırmak üzere saklandı. Hastalardan birinde 2 gen bölgesinde de farklılık bulunmaktaydı. c.254delT ve p.Leu6Pro bölgelerinde farklılık gözlenen 4 hastadan tümünde farklı şiddette hemifasiyal mikrozomi bulguları mevcut iken, bir hastada da farklı göz ve el bulgularına rastlandı. Ameliyat sırasında mikrotik kalıntı kıkırdaktan alınan örneklerde histopatolojik inceleme yapılarak kalıntı kıkırdağın farklı histolojik yapıda olup olmadığı araştırıldı.

Anahtar Kelimeler: Mikrotia, Polimorfizm, Hox, c.254delT, FGF

ABSTRACT

RECONSTRUCTION OF THE MICROTIC EAR WITH AUTOLOGOUS CARTILAGE and MOLECULAR GENETIC ANALYSIS OF MICROTIC PATIENTS

Berker BÜYÜKGÜRAL, MD

**Residency Thesis, Department of Plastic, Reconstructive
and Aesthetic Surgery**

**Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mehmet BEKERECİOĞLU
October 2009, 72 Pages**

Microtia literally means small ear. Microtia deformity has variable clinical presentations including absence of any anatomical part of the ear to complete ear aplasia (anotia). In spite of the simplicity of the term of microtia, further researches are still needed, cause of unknown etiology and the difficulty of surgical reconstruction of microtia. The prevalence of microtia is 0.8-4.2 per 10000 births. Microtia has multifactorial etiology. It is thought that several different genetic and environmental factors are responsible from the etiology of microtia. Mendelian hereditary forms of microtia with an autosomal dominant or recessive mode of inheritance, and some forms due to chromosomal aberrations have been reported. Since wide variety of animal investigations have been performed about the hox genes which is known to have an important role on branchial arch development, a gene locus responsible from microtia is still unclear.

In our study, we were planning to research the promotor polymorphism of FGF3 gene to investigate genetic etiological predisposition and familial inheritance of microtia using PCR-SSCP system on the blood of microtic patients and their family referred to our clinic. Moreover, we proposed to compare the phenotypical features of patients' in whom we determined genetic variety and patients who had normal genetic attribution. In the same ages with microtia patients, 21 patients who don't have any syndromes or microtia history were included to this study as a control group.

In 4 of 21 patients included in that study, we identified movement differences on polyacrylamide gel electrophoresis. In 3 patient c.254delT gene locus and in 2 patient p.Leu6Pro gene locus of FGF3 genes were identified to have differences. The patient DNA's were keeping for obtaining DNA sequence analysis. One of the patients had differences in both 2 gene locus. Four of the patients that identified differences on FGF gene locus had hemifascial microsomia features and one patient has several eye and hand findings. We performed a histopathological examination on remnant cartilage fragments that we took out during the microtia operation and investigate whether the remnant cartilage had different histological findings or not.

Keywords: Microtia, Polymorphism, Hox, c.254delT, FGF

KISALTMALAR

(BÇ)	Baz Çifti
(CI)	Confidence Interval
(Cm)	Santimetre
(DNA)	Deoksiribonükleik Asit
(EDTA)	Etilendiamin tetraasetikasit
(FGF)	Fibroblast Growth Factor
(Gr)	Gram
(GS)	Goldenhar Sendromu
(HM)	Hemifasiyal Mikrozomi
(Kb)	Kilobaz
(Kd)	Kilodalton
(KKDG)	Kısmi Kalınlıkta Deri Grefti
(LN)	Lot Numarası
(ml)	Mililitre
(µl)	Mikrolitre
(mm)	Milimetre
(mRNA)	Mesajcı RNA
(ng)	Nanogram
(N)	Sinir
(Nt)	Nükleotid
(OAVS)	Okülo-Aurikülo-Vertebral Spektrum
(OR)	Otozomal Resesif
(OD)	Otozomal Dominant
(PCR)	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
(Rpm)	Dakikada Çevresel Tur Sayısı (Round per Minute)
(STR)	Kısa DNA Tekrarı
(RNA)	Ribonükleik Asit

(SDS)	Sodyum Dodesil Sülfat
(SNP)	Tek Nükleotid Polimorfizmi
(SSCP)	Single Strand Conformation Polymorphism
(TE)	Tris EDTA
(TKDG)	Tam Kalınlıkta Deri Grefti
(TPF)	Temporapariyetal Fasya
(U)	Ünite
(UV)	Ultraviyole

Tablo Listesi

Tablo 1. Farklı popölasyonlarda mikrotia özellikleri	14
Tablo 2. Tanzer sınıflaması	15
Tablo 3. Mikrotia rekonstrüksiyon tekniklerinin karşılaştırması	27
Tablo 4. Allojenik materyallerin dezavantajları	34
Tablo 5. Hastaların klinik ve laboratuvar bulguları	51

Resim Listesi

Resim 1. Sağ mikrotia	1
Resim 2. Kıkırdak kulak çatısı	3
Resim 3. Preauriküler pit	4
Resim 4. Skin tag	4
Resim 5. Kulak anatomisi	6
Resim 6. Kulağın histolojik görünümü	7
Resim 7. Mikrotia tipleri	15
Resim 8. Goldenhar Sendromu	19
Resim 9. Treacher Collins Sendromu	20
Resim 10. Mikrotik kulak onarımında kulak pozisyonunun planlanması	26
Resim 11. Brent'in tekniğinde kıkırdak iskeletin oluşturulması	27
Resim 12. Nagata'nın tekniğine uygun kostal kıkırdak grefti alınması	28
Resim 13. Kulağı mastoid bölge derisinden kaldırma ve lobül transferi aşamaları	30
Resim 14. Ameliyat öncesi hazırlık	37
Resim 15. Kostal kıkırdaktan kulak iskeleti oluşturulması aşamaları	38
Resim 16. Kulak lobülü transpozisyonu	38
Resim 17. Mikrotik hastanın ameliyat öncesi ve sonrası görüntüleri	39
Resim 18. İkinci. seans kulağın kaldırılma işlemi	40
Resim 19. Üçüncü. seans erken ve geç dönem görüntüleri	41
Resim 20. PCR aleti (gene Amp PCR System 9700)	45
Resim 21. c.254delT bölgesinin hasta ve kontrollerdeki PCR amplifikasyon örneği (M=DNA cetveli)	45
Resim 22. p.Leu6Pro bölgesinin hasta ve kontrollerdeki PCR amplifikasyon örneği (M=DNA cetveli)	46
Resim 23. c.254delT bölgesinin hasta ve kontrollerdeki PCR amplifikasyonun PCR-SSCP analizi	47

Resim 24. p.Leu6Pro bölgesinin hasta ve kontrollerdeki PCR amplifikasyonunun PCR-SSCP analizi	47
Resim 25. FGF3 c.254delT gen bölgesinde farklılık saptanan hasta	49
Resim 26. Sağ mikrotialı hastada hemifasiyal mikrozomi görünümü.	50
Resim 27. Kalıntı kulak kıkırdağı(sol) ve normal kulak kıkırdağı (sağ) histolojik görüntüsü	50

Şekil Listesi

Şekil 1. Kulağın boyutları ve anatomik pozisyonu	5
Şekil 2. Kulak arteryel dolaşımı	8
Şekil 3. Kulağın lenfatik dolaşımı	9
Şekil 4. Dış kulak duyusal innervasyonu	10
Şekil 5. Dış kulağın embriyolojisi	11
Şekil 6. Nagata'nın cep oluştururken kullandığı W-insizyon	29

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Erişkin kulağı dış, orta, iç kulak ve ilişkili kohlear ve vestibular ganglialardan oluşur. Dış kulak ise pinna olarak adlandırılan kulak kepçesi ve ses vibrasyonlarını doğrudan timpanik membrana iletmekle görevli dış kulak yolundan oluşmaktadır. Kulağın boyutu, şekli, pozisyonu, preauriküler pit (çukurluk) ve skin tagler (çıkıntı) ile ilgili birçok farklı dış kulak anomalisi tanımlanmıştır (1). Mikrotia, kulağın konjenital olarak küçük, anormal şekilli olduğu embriyonik gelişim anomalisidir (Resim 1). Farklı toplumlarda yapılan çalışmalarda mikrotianın yaygınlığı 10000 doğumda 0.8-4.2 olarak tespit edilmiştir (2-8).



Resim 1. Sağ mikrotia

Tek taraflı mikrotia formu daha sık görülürken (%79-93), bu olguların %60'ında sağ kulağın etkilendiği bilinmektedir (6-8). Mikrotia, erkek popülasyonda daha sık görülür (3-9). Tek taraflı mikrotialıların diğer kulağında genellikle işitme problemi bulunmaz. Mikrotik kulağa sahip çocukların dil gelişiminde gecikme ve dikkat eksikliği bulunma olasılığı normal popülasyona

göre fazladır (10). Dış kulak ve orta kulağın aynı embriyonik yapılardan köken alması nedeniyle mikrotialı hastaların %55-93'ünde, kulak yolunun atrezi ya da stenozu bulunabilir (4,9,11).

Şimdiye kadar farklı birçok mikrotia sınıflandırması yapılmış olsa da günümüzde en yaygın kullanılan Nagata'nın yaptığı sınıflandırmadır. Bu sınıflandırma, (1) *lobül tipi*; sadece kulak kalıntısı ve lobül var, dış kulak meası ve tragus yok, (2) *konka tipi*; kalıntı kulak, lobül, konka, akustik meas, tragus ve tragus intertragica vardır, (3) *küçük konka tipi*; kulak kalıntısı ve lobül ile birlikte konkayı temsil eden bir çentik vardır. (4) *klinik anotia*; kulak hiç yok ya da küçük bir parça var, (5) *atipik mikrotia*; hiçbir sınıfa sokulamayan mikrotia şeklindedir.

Mikrotik vakaları arasında anotia görülme sıklığı %5-22'dir (12). Mikrotianın derecesi ile orta kulak displazisi arasında güçlü bir korrelasyon bulunmaktadır. Genellikle, daha iyi gelişmiş mikrotik kulakta orta kulak da daha iyi gelişmiştir (13,14).

Mikrotik hastaların değerlendirilmesinde ilişkili anomalileri de tarayıp değerlendirmek, vakanın bilinen bir sendrom kapsamına girip girmediğini bilmek açısından önemlidir. İşitme problemleri açısından hasta, kulak burun boğaz hekimiyle birlikte takip edilmelidir. Mikrotik hastarın %80'inde iletim tipi işitme kaybı bulunur. Hava iletimi 40-65dB değerlerine kadar düşebilirken, kemik iletimi %90'dan fazlasında normaldir (4,5,15).

Günümüzde 3 boyutlu kıkırdak iskeletinin otojen kostal kıkırdak ile oluşturulduğu rekonstrüksiyon tekniği en yaygın uygulanan tekniktir (16), (Resim 2).

Mikrotia etiyojisinde, maternal enfeksiyonlar, isotretinoin benzeri teratojenik ilaçlar, stapediaal arter tıkanıklığı gibi farklı çevresel faktörler yanında hastalığın genetik zemininin de bulunduğu bilinmektedir. Mikrotianın herediter geçişli formlarında otozomal dominant ya da resesif geçiş ile kromozomal sapmanın bazı formları rapor edilmiştir (1).



Resim 2. Kıkırdak kulak çatısı

Fibroblast büyüme faktörü (FGF) hücreler arası sinyal molekülleri ailesinin önemli bir üyesidir. Ligand/reseptör kombinasyonu ve embriyonik şartlara bağlı olmak üzere FGF farklı hücresel yanıtlar oluşturma yeteneğindedir. Diferensiyasyon, proliferasyon, hücre göçü, yaşamı, doku indüksiyonu ve morfogenez sırasında ayrılma gibi farklı süreçleri regüle ederler (17). Mikrotia, mikrodonti, Michel labirent aplazisine bağlı sağırılık bulguları olan 10 hastada FGF3 geninin homozigot mutasyonları olduğu bildirilmiştir (18).

Çalışmamızda mikrotianın genetik zemini ile klinik ilişkisini araştırdık. Bu çalışmada kliniğimize başvuran mikrotialı hastalar ve 1.derece akrabalarının FGF3 geninde farklılık olup olmadığını inceleyerek elde edilen verilere göre mikrotik hastaların klinik bulguları ile FGF3 geni ile ilişkili bir ailesel genetik geçiş olup olmadığını inceledik. Ayrıca kliniğimizde Nagata'nın tanımladığı yöntem esas alınarak otojen kostal kıkırdak ile mikrotik kulak onarımlarımızı değerlendirdik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KONJENİTAL KULAK DEFORMİTELERİ

Dış kulağın büyüklüğü, şekli, yapısı ve pozisyonu ile ilgili anomaliler yeni doğanda sık görülen bulgulardandır. Yeni doğanda intrauterin fetal basıya bağlı deformasyonları da içeren her türlü kulak anomalisi görülme sıklığı %20'dir (19). Dış kulak anomalileri, bir müdahale gerektirmeyecek minör deformasyonel anomaliler olabileceği gibi, orta ve iç kulak anomalileri, işitme kaybı ya da diğer konjenital defektler ve genetik sendromların eşlik ettiği önemli yapısal anomalilerle ilişkili de olabilir (19). Kulak pitleri ve tagleri, kulağın en sık görülen doğumsal küçük anomalileridir ve görülme sıklığı 1000 canlı doğumda 5-6'dır (20) (Resim 3,4). Skin tagler ve aksesuar preauriküler pitler ailesel geçiş gösterebilir. Erkeklerde ve beyaz ırkta görülme sıklığı daha fazladır.

Kulağın konjenital anomalilerinin kendi arasındaki dağılımı şu şekildedir:

- ✓ Prominent ear %39
- ✓ Mikrotia %33
- ✓ Lop ear %7.3
- ✓ Cup ear %3.6
- ✓ Diğer %16.2



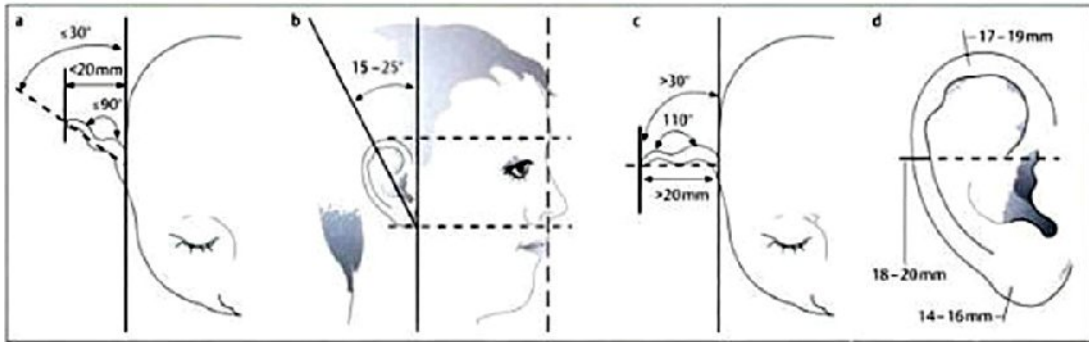
Resim 3. Preauriküler pit



Resim 4. Skin tag

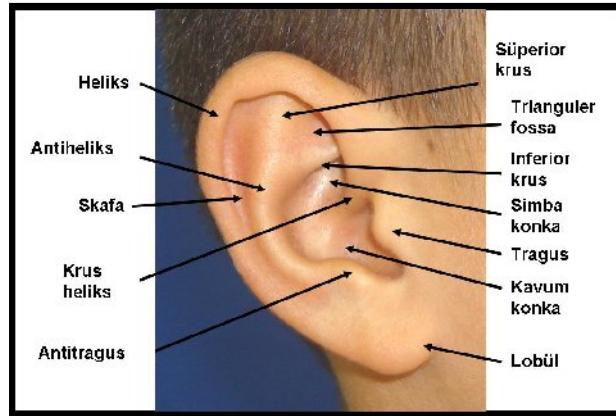
2.2. KULAK ANATOMİSİ

Dış kulak komşulukları, ölçüleri ve oranları tam olarak Tolleth tarafından derlenmiştir (21). Erişkin kişide dış kulak 5.5–6.5 cm uzunluğundadır ve genişlik uzunluğunun %55–60'ı kadardır. Kulağın vertikal aksı genellikle burnun vertikal aksına paralel yerleşimlidir Kulak kabaca oval olarak tanımlandığında posteriora vertikal ekseninde 15-20 derecelik açılanma gösterir ve inferoposterior kesimi transvers aksa göre 30 derecelik açılanma gösterir (aurikülosefalik açı) (Şekil 1). Kafa ve konka arasında 90 derecelik açı mevcuttur. Skafoïd fossa kafaya paralel yerleşimlidir ve dolayısıyla konkoskafoïd açı da 90 derecedir. Aurikulanın üst sınırı kaş hizasındadır. Alt tutunma yeri kolumella tabanından geçen horizontal çizgidedir (Şekil 1). Tragus bu iki çizginin ortasında yer almaktadır. Kulak lateral orbital rimden yaklaşık bir kulak uzunluğu kadar lateralde yerleşim göstermektedir. Kulağa karşıdan bakıldığı zaman heliks yapısı görünmekte olup antiheliks yapısı daha az belirgin olarak izlenmektedir. Lobül üst sınırı intertragal çentikten başlar kulak vertikal uzunluğunun %25–30'u kadardır. Kulak lobülü ırksal ve yapısal olarak değişik şekillerde yuvarlak, köşeli triangular şekillerde olabilmektedir.



Şekil 1. Kulağın boyutları ve anatomik pozisyonu

Dış kulak üç ana yapıdan oluşur, helikal-antihelikal yapı, konkal yapı ve lobül (Resim 5). Dış yüzün en derin yeri konka adını alır. Bu çukurluk krus heliks tarafından ikiye bölünür; üstte kalan kısma simba konka, altta kalan kısma ise kavum konka adı verilir.



Resim 5. Kulak anatomisi

Kavum konka önde tragus, altta antitragus ve üstte antiheliks tarafından sınırlandırılır. Antiheliks kururaları arasında kalan alan, fossa triangularis adını alır. Kulak kıkırdığı serbest kenarının üstte ve arkada öne doğru yaptığı katlantı heliks adıyla anılır. Kulağın en alt kısmında yer alan kıkırdaksız yapı ise lobül olarak adlandırılır.

Heliks: Heliks kökü konka hizasından başlar, bu hiza vertikal uzunluğun orta noktasıdır ve konkanın üst 1/3 kısmına denk gelir. Heliks kökü yukarı doğru çıkar, bir kavis çizerek intertragal çentik hizasında sona erer. Bu kavisin yarı çapı 1.5-1.75 cm'dir. Heliks arkadan bakıldığı zaman düz görünür. Ancak çeşitli konturlarda da izlenebilir.

Antiheliks: Y şeklinde bir yapıdır. Anterior ve posterior krusu mevcuttur, muayenede anterior krus daha belirgindir. Keskin bir fold şeklindedir ve posterior krustan daha geniştir.

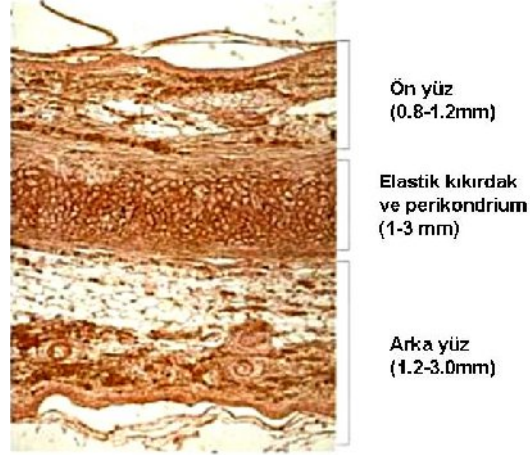
Konka: Üstte anterior krus, arkada antiheliks, aşağıda antitragus ve önde tragus arasında bulunan üçgen şeklindeki yapıdır. Konkanın derinliği antiheliks yapısının kabarıklığının sağlanması ile elde edilir. Konka, kulak yüksekliğinin %35-40'nı, genişliğinin %55-60'ını oluşturur.

Tragus: Dış kulak yolunun ön duvarında normal kulağın medialinde ve kulaktan biraz daha çıkıntılı olarak yerleşen yapıdır. Bazen tek çıkıntı iken çoğunlukla çift çıkıntı halinde izlenebilir.

Lobül: Çok değişik yapı ve boyutta izlenebilir ve üst sınırı intertragal çentiktir. Kulak yüksekliği toplamının %20–25’ini oluşturur. Yuvarlak, kare, üçgen şeklinde olabilir. Bazen ön kenara tamamen yapışmış olarak izlenebilir. Bazı etnik kökenli insanların kulağında lobül yoktur.

Kulak kıkıdağı elastik yapıdadır ve 1-3 mm kalınlığındadır (Resim 6). Kulağın anterior yüzü ince cilt altı dokusu içeren deri ile örtülü, posterior yüzü ise daha kalın subkutan doku ve kas dokusundan oluşan kompozit doku ile kaplıdır.

Kulağın cerrahi olarak kolaylıkla kopyalanamamasının en önemli sebebi, çatıyı oluşturan karmaşık ve 3 boyutlu kıvrımların bulunduğu bir elastik kıkırdak ve bu çatıyı örten ince deriden oluşan detaylı anatomik yapısıdır. Dış kulak deri örtüsü, kulak ön yüzünde 0.8-1.2 mm, arka yüzünde 1.2-3.0 mm kalınlığındadır. Kulak çatısı 1-3mm kalınlığında elastik kıkırdaktan oluşur. Kulak memesinde (lobül) ise kıkırdak olmayıp fibröz-yağ dokusundan oluşmaktadır (Resim 1).

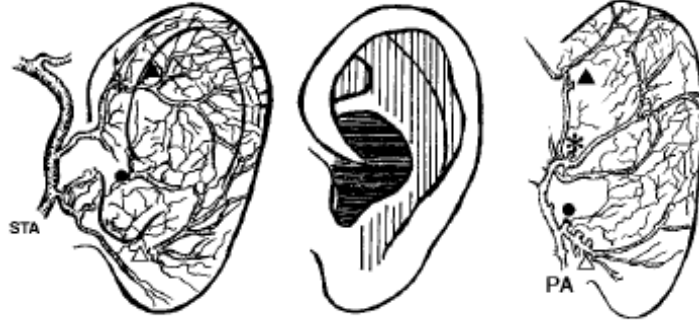


Resim 6. Kulağın histolojik yapısı

2.2.1. Kulağın Vasküler Dolaşımı

Kulak dolaşımı esasen iki farklı vasküler ağ sistemi ile gerçekleşir (Şekil 2). Bunlardan biri triangular fossa ve skafada, diğeri ise konkada yerleşimlidir. Kulağın anterior aurikular yüzeyi dominant olarak *posterior aurikular arterden* gelen perforatörlerle beslenir. Bu perforatörler triangular fossa, simba konka, kavum konka, heliksin kökü ve kulak memesinde yerleşimlidir. Posterior

aurikular arter eksternal karotid arterden orijin alır. *Süperfisyal temporal arterden* gelen tek dal ise helikal rimi geçerek triangular fossa ve skafada yerleşimli vasküler ağı besler. Bu iki arteriyel ağ arasındaki ilişkiler sayesinde her iki arteriyel sistem tek başına tüm kulağı besleyebilir.

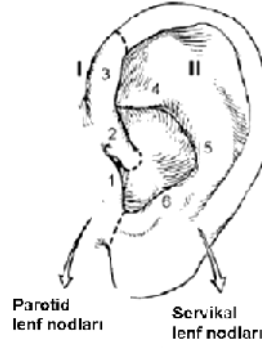


Şekil 2. Kulak arteriyel dolaşımı (STA; süperfisyal temporal arter PA; postauriküler arter. Kulak kepçesi anteriorda süperfisyal temporal arterin aurikuler dalı, posteriorda a.karotis eksternanın postaurikuler dalı ile kanlanır. Kulağın drenajı arterlere eşlik eden venlerle sağlanır)

Kulağın venöz drenajı ise eksternal jügüler sisteme dökülen posterior aurikular ven, süperfisyal temporal ve retroaurikular venlerle olur.

2.2.2. Lenfatik Drenaj

Dış kulak lenfatik drenaj paterni, genellikle embriyolojik gelişimi yansıtır (Şekil 3). Genel olarak konka ve meatus, süperfisyal parotid ve infraklaviküler lenf nodlarına drene olur. Dış kulak yolu ve kulak üst kısmı ise mastoid (retroauriküler) ve derin servikal lenf nodlarına drene olur. Bununla birlikte, melanoma ve diğer neoplastik hastalıklarda kullanılan sentinal lenf nodu biyopsi ve lenfosintigrafileri sonucunda, baş ve boyunun lenfatik drenaj paterninin daha karmaşık olduğu bildirilmiştir (22,23).



Şekil 3. Kulağın lenfatik dolaşımı

2.2.3. Kulağın Duyusal İnnervasyonu

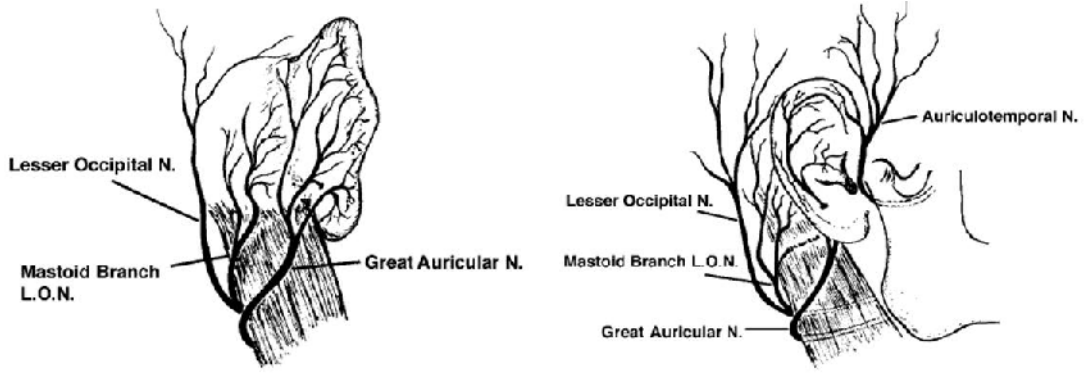
Dış kulak, trigeminal sinirin dalları, Vagus ve servikal sinirler tarafından inerve olur (Şekil 4).

Büyük auriküler sinir (C2–C3): Servikal sinirdir. Kulağın hemen hemen tüm arka yüzünün ve ön yüz lateral kısmının duyu inervasyonunu sağlar.

Aurikulotemporal sinir (V3): Trigeminal sinirin mandibular dalından gelir. Kulağın ön yüzünde tragus ve heliks kesiminin duyu inervasyonunu sağlamaktadır. Bu sinirden gelen eksternal auditör dal eksternal meatusun duyu inervasyonunu sağlar.

Küçük oksipital sinir: Aurikulotemporal sinir ile birlikte kulağın üst bölgesini inerve eder.

Arnold Siniri (N. Vagusdan kaynaklanan aurikular branch): Kulağın konkal bölgesinin ve dış kulak yolunun arka duvarının duyu inervasyonunu sağlar.



Şekil 4. Dış kulak duyusal innervasyonu; (sol) kulak arka bölümü innervasyonu, (sağ) Kulak ön kısım innervasyonu

2.2.4. Kulağın Kasları

İnsan kulağındaki kaslar intrinsik ve ekstrinsik olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Kasların motor fonksiyonu yoktur, aurikülanın pozisyonun sağlanmasında destek görevi görürler.

a. Ekstrinsik kaslar:

Superior auriküler kas: Kulağın en geniş kasıdır. Galeal aponevrozdan başlar, triangular fossanın posterioruna yapışır.

Anterior auriküler kas: Temporal fasyanın süperfisyal tabakasından başlar, helikal spine yapışır.

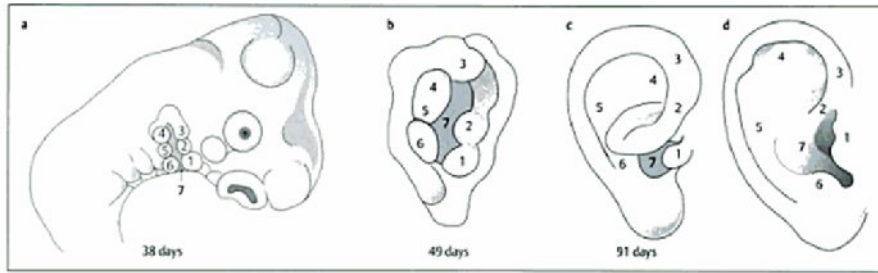
Posterior auriküler kas: Mastoid prosesin lateral yüzeyindeki aponevrozdan başlar konkal çıkıntıya yapışır.

b. İntrensik kaslar:

İntrensek kas yapıları ise ufak şeritler şeklindedir ve helicis majör ve minör, tragus, antitragicus, transvers ve oblik kaslardan oluşur (24). Bu kaslar fasial sinir tarafından inerve olur.

2.3. EMBRİYOLOJİ

Orta kulak ve dış kulak esas olarak birinci (mandibular) ve ikinci (hyoid) brankial arklardan ve birinci brankial yarıktan köken alır. Dış kulak, embriyonik sürecin 6. haftasından başlayarak bu arklar üzerinde yerleşim gösteren altı adet mezenşimal orijinli tepecikğin gelişimi ile oluşur. Tepecikler kendi aralarında hyoid ark üzerinde aşağı doğru mandibular arklar üzerinde yukarı doğru yerleşim gösterirler. Gelişim esnasında mandibular ark retardasyon gösterirken hyoid ark ekstansiyon ve ileri rotasyon gösterir. Birinci tepecik tragusu altıncı tepecik antitragusu oluşturur. Dördüncü ve beşinci tepecikler, kulağın anterosüperior bölümünü, heliks krusunu oluşturur. Üçüncü tepecik heliksi, dört ve beşinci tepecik antiheliksi oluşturur (Şekil 5). Her ne kadar kulak kepçesi ve dış kulak yolu servikal bölgede gelişimine başlasa da, normal anatomik pozisyonuna ulaşmak amacıyla kraniyale doğru göç ederler.



Şekil 5. Dış kulağın embriyolojisi. a. 11mm insan embriyosunda tepeciklerin görünümü, b. 15mm'lik embriyonun 7. haftadaki görünümü, c. 13 haftalık embriyoda kulak görünümü, d. Erişkin kulağında anatomik bölümlerin kökeninin sayı ile gösterimi.

Kulak gelişimi 3. ayda tamamlanır 7. ayda dış kulak doğumdaki şekline ulaşır. İç kulak, dış ve orta kulaktan farklı embriyolojik dokulardan kaynaklanmaktadır. Bu nedenle de mikrotia olgularında dış ve orta kulak hastalıklı iken iç kulak sağlamdır. 1. ve 2. brankial arkların arasında bulunan 1. brankial yarığın kendisi, çukurlaşarak dış kulak yolunu (meatus) meydana getirir.

2.4. MİKROTİA

Mikrotia, 6 ila 8. gestasyonel haftalarda birinci ve ikinci brankial arkların değişen oranlarda etkilenimine bağlı olarak farklı şekillerde ortaya çıkan kulak gelişimsel anomalisidir. Anotia, kulak anomalilerinin en ağır formu olup kulağın total yokluğu ile karakterize, nadir bir anomalidir. Mezenşimal proliferasyonun olmamasından dolayı auriküler yapılarda hiç gelişme yoktur. Mikrotia çok ağır formlardan atrezik kanal ile beraber küçük bir kulak olmasına kadar değişen formlarda oluşabilmektedir. Mikrotianın şiddetli formları muhtemelen gestasyonun 6-8. haftalarında embriyolojik gelişimin durması ile ortaya çıkmaktadır. Hafif formlarda ise bu duraklama 3. ay civarı gibi daha geç dönemlerde olmaktadır. Kulak deformiteleri, embriyonik kökenlerini paylaştıkları fasiyal sinir, orta kulak, mandibula, dudak ve damak gibi farklı yapıların tek tek ya da birlikte etkilendiği klinik durumlarla birliktelik gösterebilir.

Çocuklarının sahip olduğu hastalık nedeniyle ailenin suçluluk duygusu içerisinde olması, çocuğun yaşıtlarından farklı olmasına bağlı alay konusu olması ve utangaçlık gibi psikolojik faktörler nedeniyle mikrotia hem aile hem de çocuk açısından önemli bir stres faktörüdür (25). Bunun yanında ek işitme problemleri de çocuğun ileriki yaşamında sosyal kısıtlamalara maruz kalmasına neden olabilir.

2.4.1. Epidemiyoloji

Bilinen kromozomal anomaliler dışında, mikrotia görülme sıklığı 10.000 doğumda 0.76 ila 2.35 arasındadır (11,26-29). Genellikle Hispanik ve Asya kökenlilere nazaran beyaz ırkta daha az sıklıkta görülmektedir (Tablo 1). Anotia mikrotia oranları ırksal değişkenlik gösterirken anotianın en az sıklıkta görüldüğü ırk yine beyaz ırktır. Klinikte mikrotia en sık (%60-70) izole formda görülür (11). Tek taraflı vakalarda, sağ mikrotia görülme sıklığı daha fazla iken sağ, sol ve bilateral oranları 5:3:1 şeklindedir. Yine izole mikrotia formları erkekte daha yaygın iken Çin'de yapılan bir çalışmada cinsiyet farklılığının bulunmadığı rapor edilmiştir (30).

Mikrotiaya eşlik eden diğer deformiteler bazen klinik olarak fark edilmese de, bazı hastaların radyolojik değerlendirmelerinde mandibula (en sık kondil), temporal kemik ve vertebral patolojiler saptanabilir. İzole mikrotia, hemifasiyal mikrozominin en hafif formu olarak da karşımıza çıkabilir (26-29).

Tablo 1. Farklı popülasyonlarda mikrotia özellikleri

Hasta sayı	Sıklık /10000 doğum	Anotia %	İzole %	Tek taraf %	Sağ/Sol	Cins	Aural atrezi %	Diğer anomali	Ailesel %	Hasta orijini
80	17.4	-	85	93	%67 R	-	-	-	15	Ekvator
175	3.2	-	66	90	%60 R	-	-	-	-	G. Afrika
294		-		61	%70 R	%64 E	-	45	-	Şikago ABD
172	1.5	-	66	85	%57 R		-	44	-	İtalya
954	0.8	45	68	-	-	-	-	-	-	Fransa
	2.4	9	67	-	%61 R	E>K	-	-	-	İsveç
	2	2	50	-	-					Kaliforniya
592	-	-	-	91	%64 R	%65 E	92		3	Japonya
38	3.8	-	-	81	R>L	%63 E	-	53	15	Venezuela
145	-	-	-	75	%52 R	%60 E	55	25	34	Meksika
453	1.4	-	-	-	-	E=K	-	60	-	Çin
636	2.2	-	25	79	-	E>K	-	-	-	Kaliforniya
120	3.8	8	56	80	%64	E>K	-	-	-	Havayi
53	-	-	-	49	%46	%60 E	-	-	9.4	Almanya
190	4.3	5	67	88	%60 S	%58 E	93	-	20	Finlandiya

(R= Sağ, L= Sol, E= Erkek, K= Kız)

2.4.2. Sınıflandırma

Tanzer 1975 yılında embriyolojik gelişime uygun olarak konjenital kulak deformiteleri sınıflandırmıştır (31),(Tablo 2).

Tablo 2. Tanzer sınıflaması

Tanzer Sınıflaması:	
i.	<i>Anotia</i>
ii.	<i>Mikrotia</i> <i>Dış kulak atrezisi ile birlikte</i> <i>Dış kulak atrezisi yok</i>
iii.	<i>Dış kulak orta 1/3 hipoplazisi</i>
iv.	<i>Dış kulak üst 1/3 hipoplazisi</i> <i>Cup ya da lop ear</i> <i>Kriptotia</i> <i>Kulak üst 1/3 tamamen hipoplazisi</i>
v.	<i>Kepçe kulak</i>

Şimdiye kadar literatürde farklı mikrotia sınıflandırmaları yapılmışsa da günümüzde en fazla kullanılan mikrotia sınıflandırması Nagata'ya aittir. Nagata mikrotia sınıflandırmasını, varolan kulak kalıntısı ile cerrahi onarımı ilişkilendirerek yapmıştır (Resim 7). Bu sınıflandırmaya göre;

- ✓ Tip I (lobül tipi): Yalnızca lobül ve kulak kalıntısı var.
- ✓ Tip II (konka tip): Lobül, konka, tragus, antitragus vardır.
- ✓ Tip III (küçük konka tip): Bir kulak kalıntısı, yanlış yerleşimli lobül ve konka yerine küçük bir oyuk var

- ✓ Tip IV (anotia): Hiç kulak kalıntısı yok
- ✓ Tip V (atipik mikrotia): Hiçbir sınıfa sokulamayan mikrotik deformite şeklindedir.

Klinik olarak en sık tip I mikrotia görülür. Aşırı derecede küçük mikrotik bir kalıntı olsa bile lobüler komponent vertikal oryantasyonda olup süperiora deplase konumdadır.



Resim 7. Mikrotia tipleri: Anotia(üst sol); lobüler tip mikrotia (üst); lobül ve heliks yapılarının etkilendiği ara deformiteler (orta); dış kulak meası ile beraber izole tragus (orta sağ); konkal, tragal, kulak yolu, lobül ve helikal yapıların deformitesi ("cup" ear, "lop" ear ve küçük konkal mikrotia)

2.4.3. Etiyoloji

Total kulak deformitelerinin %33'ü akkiz, %66'sı konjenital anomalilerdir. Mikrotianın etiyojisi henüz net olarak anlaşılmamış olup genetik sapmalar,

teratojenler ve vasküler anomaliler gibi genetik ve çevresel faktörler sorumlu tutulmaktadır (11).

2.4.3.1. Genetik Faktörler

Mikrotia olguları arasında tahmin edilen ailesel geçiş oranı %3-34'tür (3,7-9) (Tablo 1). Mikrotia'nın hereditör formlarında, farklı ekspresyonlarda ve tamamlanmamış geçişli (inkomple penetrans) otozomal dominant ya da resesif formları rapor edilmiştir (11,12,32-34). Hiç bir sendromla ilişkisi olmayan farklı klinik özelliklerde ailesel mikrotia vakaları bildirilmiştir (35). Farklı mikrotia ve ilişkili sendromlarda hem tek gen defektleri hem de kromozomal aberasyonlar bildirilmiştir. 6p24 bölgesini etkileyen kromozomal translokasyonlar, orofasiyal yarı ve bilateral mikrotia ile ilişkilendirilmiştir (36).

Endotelin1 (Edn1), fibroblast büyüme faktörü 8 (Fgf8) ve retinoik asit (RA) gibi sinyal moleküllerinin epitelyal-mezenkimal etkileşimlerde medyatör rolü oynadığı gösterilmiş olup, bu moleküller ayrıca brankial arkların gelişiminde de rol alırlar (37). Bu faktörlerin mutasyonu durumunda aynı zamanda orta kulağın gelişiminin de etkilendiği gösterilmiştir. Homeobox genler embriyonik gelişimde kritik gelişimsel transkripsiyonu eksprese eden genlerdir. Yapılan fare deneylerine göre Hoxa2 ve Hoxa1 genleri dış kulak gelişiminde büyük öneme sahiptir (38,39). Bir homeobox geni olan Hoxa2'nin 2. brankial ark yapılarının tam gelişiminde önemli etkileri olduğu gösterilmiştir (39). Hoxa1 gen mutasyonunun ise orta kulak defektlerine neden olduğu gösterilmiştir (40,41). Dört Sudi Arabistanlı ve bir Türk ailede kardiyak problemler, otizm, sensörinöral duyma eksikliği ve dış kulak defektleri ile karakterize otozomal resesif bir sendrom bildirilmiştir (42). Hoxa2 homeobox geni izole edilen İranlı bir ailede, otozomal resesif (OR) bilateral mikrotia, şiddetli miks tip duyma bozukluğu ve inkomple yarı damak saptanmıştır (43). Hastalardan birinde bilateral kohlea bulunmamaktadır. Bu ailede yapılan çalışma ile anormal HOXA2 ya da HOXA2'nin kaybı sonucu insanda özellikle dış ve orta kulakta işitme sistemi anomalileri görüldüğü, ayrıca iç kulak etkileniminin de görülme olasılığının bulunduğu gösterilmiştir (43).

2.4.3.2. Çevresel Faktörler

Stapedial arterin oblitere olması sonucunda doku iskemisinin oluştuğunu ve buna bağlı olarak kulak anomalilerinin oluşumu ileri sürülmüştür (44). Hamileliğin ilk üç ayında rubellaya bağlı sağırılık ve mikrotia oluşumu bildirilmiştir. İntrauterin sifiliz enfeksiyonları kulak agenezisinde sorumlu tutulmuştur. Latin Amerika’da yapılan bir çalışmaya göre 1.trimesterde geçirilen influenza gibi akut maternal hastalıklar mikrotiada majör risk faktörüdür (45). Japonya’da 592 mikrotia hastasının klinik analizi ile yapılan çalışmada, mikrotik hasta annelerinin hamilelikleri sırasında annelerden %28’inde soğuk algınlığı, kısa süre önce geçirilen spontan abortus, gestoz ve anemi öyküsü bulunduğu saptanmıştır (9).

Gebelik döneminde Thalidomid kullanımı ve tiroid preparatları kullanımı sonrası infertilite tedavisi yapılan gebeliklerde konjenital kulak anomalilerinin daha sık gözlemlendiği bildirilmiştir (46). Dermatolojik bir ilaç olan isotretinoin kullanan gebelerin %83’ünün gebeliği spontan abortus ya da mikrotia gibi ciddi doğumsal defektli infant ile sonlanmış (46). Gebelikte immünsüpresif bir ajan olan mikofenolat mofetil kullanımı da yine mikrotia, yarı dudak ve damaklı infant doğum riskini arttırdığı saptanmıştır (47). Gestasyon sırasında fareye verilen, etan dimetanesülfonatin (alkalizan ajan) doza bağımlı olarak bilateral mikrotiaya neden olduğu saptanmıştır. Doz artırımında mandibula ossifikasyonunun da inhibe olduğu görülmüştür.

Bunların dışında mikrotianın etiyolojisinde; gebelikte anemi, ırk, ileri anne ve baba yaşı, 4 ve daha fazla doğum sayısı gibi birçok farklı faktör sorumlu tutulmuştur (2-8,48). Kronik tip I diabetli annelerin mikrotialı çocuk doğurma riski daha yüksek bulunmuştur. Mikrotialı çocukların doğum ağırlığı genellikle normal iken düşük doğum ağırlığı riski normal çocuklara göre daha yüksektir. Vitamin A (retinol) hücre büyümesi ve diferansiyasyonunda gerekli bir faktördür. Gebelikte aşırı vitamin A alımı, yüz yarıkları, mikrognati, mikrotia ve damarsal anomali riskini arttırmaktadır (48).

2.4.4. Mikrotia ile İlişkili Konjenital Anomaliler ve Sendromlar

Mikrotialı hastaların %15-60 daha ek anomaliler görülebilmektedir. Bilateral vakalarda ek anomali görülme sıklığı daha fazladır. İlişkili konjenital malformasyonlardan en sık gözleneni (mikrotialı infantların %30'u) yüz bölgesi yarıkları ve kardiak defektler, onu takiben anoftalmi ya da mikroftalmi (%14), el ayak defektleri ve farklı renal malformasyonlar (%11), holoprosensefalidir (%7) (12).

Günümüzde mikrotianın, izole ve farklı bir klinik durum mu yoksa hemifasiyal mikrozomi (HM), Okülo-Aurikülo Vertebral Spektrum (OAVS) ve Goldenhar Sendromu (GS)'nin bir uzantısı mı olduğu tartışmaları devam etmektedir (27,28,49).

2.4.4.1. Okulo-Aurikülo-Vertebral Spektrum (OAVS)

OAVS 1. 2. brankial ark kaynaklı dokuların etkilendiği heterojen bir hastalıktır. OAVS genel olarak, izole mikrotiadan Goldenhar Sendromuna kadar değişen bir yelpaze içerisinde, hemifasiyal mikrozomi, oküler anomaliler ve vertebral defektler ile karakterize bir hastalıktır.

Hemifasiyal mikrozomi, kranial ve ekstrakranial anomalilerin olduğu, primer olarak kulak, ağız ve mandibula gelişiminde geriliğe bağlı yüz alt bölümünün konjenital asimetrisidir (50). Eskiden izole mikrotia ve hemifasiyal mikrozominin farklı klinik durumlar olduğu öne sürülürdü. Gerçekte, mikrotia hemifasiyal mikrotia deformiteleri yelpazesinin bir parçasıdır, tüm bu deformiteler kökenlerini 1. ve 2. brankial arkların gelişimini tamamlayamamasına borçludur. Yelpazenin bir ucu simetrik yüzü olan mikrotik hastadır. Yelpazenin diğer ucu ise, mikrotia, kulak atrezisi, gelişimini tamamlamamış mandibula, yanak yumuşak dokuları ve fasiyal sinir sebebiyle, yüzün bir tarafının aşikâr olarak az geliştiği hastalardır. Birçok farklı anomaliyi içeren ve farklı isimlerle anılan bu sendromların tümüne birden okülo-aurikülo-vertebral spektrum adı verilmiştir.

Bu çocuklarda servikal vertebra füzyonu olabilir. Daha ileri OAVS'lu vakalarda ensefalosel, hidrocefali, mikrosefali, plagiosefali, kot anomalileri, pulmoner agenezi, konjenital portal ven yokluğu eşlik edebilir. Bu bulgulara ek olarak çocukta işitme problemleri, etkilenen taraf yüz kas hareketlerinde zayıflık ve anormal diş gelişimi, gelişme geriliği, kardiyovasküler, pulmoner ve gastrointestinal malformasyonlar görülebilmektedir (50).

2.4.4.2. Goldenhar Sendromu (GS)

Hemifasiyal anomalinin bir varyantı olarak bilinmektedir (Resim 8). GS'nun ayırd edici özelliği epibulbar dermoid tümörlerdir. Bu tümörlerin büyük olduğu vakalarda görme etkilenir. Bazı olgularda göz hiç olmaz. Epibulbar dermoid dışında GS'da görülen göz anomalileri lipodermoid, göz kapağında kolobom, strabismus ve mikroftalmidir. Az gelişmiş mandibula ile birlikte düzleşmiş ve az gelişmiş maksilla GS'unun diğer karakteristik özelliklerdir. Etkilenen tarafta dil daha küçük, ağız yukarı kaymıştır. Kulak deformitesi olarak anotia ya da mikrotia görülürken preauriküler skin-tag ve/veya fistül eşlik edebilir. İç kulak yolu anomalileri sonucunda gelişen sağırılık, karşılaşılabilecek bir başka bulgudur. Türk toplumunda Goldenhar Sendrom'lu vakaların %52'sinde mikrotia görülmektedir (51).



Resim 8 Goldenhar Sendromu; sağda hastanın 3 boyutlu kranial tomografisi görülmektedir (52).

2.4.4.3. Treacher Collins Sendromu (TCS)

Malar çöküklük (zigomatik kemik hipoplazisi), mikrognatia (mandibular hipoplazi), alt göz kapağında kolobom, mikrotia, yarık damak ve sağırlıkla giden mandibulofasiyal diyastozistir (Resim 9). Kraniofasiyal gelişimin etkilendiği otozomal dominant (OD) bir anomalidir. TCS'lu hastaların %78'inde TCOF1 geninde mutasyon saptanmıştır. Bu güne kadar 50'den fazla hastada TCOF1 geni identifiye edilerek çoğunda eklemeler (insersiyon) ya da delesyonlar saptanmıştır (53).



Resim 9. Treacher Collins Sendromu.(54)

2.4.4.4. Di George (22q11 delesyon) Sendromu

Bu sendrom en sık görülen mikrodelesyon sendromlarından bir tanesidir. Kulak defektleri, duyu bozukluğu, kraniofasiyal anomaliler, timus ve paratiroid bez hipoplazisi ve kalp malformasyonları gibi klinik bulguları bulunmaktadır. 22q11 delesyonu bulunan tüm vakalarda dış ve orta kulak anomalilerine saptanmış olup dış kulak anomalisi aşağı yerleşimli, küçük ve anormal şekilli dış kulak şeklindedir. 22q11 delesyonlu hastalarda transkripsiyon faktörlerinden T-box genlerinin bir üyesi olan TBX1 gen delesyonu bulunmuştur. TBX1 kulak gelişiminde gereklidir ve embriyogenez sırasında birçok dokuda eksprese edilir (55).

2.4.4.5. Nager Sendromu

Nager sendromlu hastalarda mikrognați, dış kulak defektleri, dış kulak yolu stenozu, bilateral iletim tipi işitme kaybı, yarık damak, aşağı eğik palpebral fissürler, yüksek burun köprüsü, hipoplazik ya da aplazik başparmak ve değişken alt ekstremit ve ayak parmağı problemleri bulunur (56). Çoğu Nager sendromu sporadik iken, farklı OD ve OR formları rapor edilmiştir (57).

2.4.4.6. Lacrimo- Aurikülo-Dento-Dijital Sendrom (LADD)

Otozomal dominant bir sendromdur. Sensörinöral, iletim ve miks tip işitme kaybı mevcuttur (58). Cup-ear deformitesi, bazen de aşağı yerleşimli mikrotik kulak ya da küçük kepçe kulak şeklinde kulak bulguları gözlenir (59). FGF reseptör genini kodlayan FGFR2 ya da FGF10 gen mutasyonlarının LADD sendromuna neden olabileceği bildirilmiştir (58). Bu bulgular FGF'nin dış, orta ve iç kulak gelişiminde önemli rol üstlendiğinin güçlü kanıtlarıdır.

Dış kulağın farklı derecelerde etkilendiği diğer sendromlar ise CHARGE sendromu, Walker-Waburg sendromu ve Klippel-Feil sendromu, Meier-Gorlin sendromudur.

2.4.5. Tanı

Mikrotia hastasının ilk fizik muayenesinde yüz simetrisi, mimik hareketleri, dental oklüzal ilişkinin değerlendirilmesi önemlidir. Aile öyküsü ve takip eden genetik çalışmalar, herhangi bir sendromik durumu analiz etmede faydalı olacaktır. Genellikle, küçük dış kulak yolu miks tip duyu kaybı ile ilişkili iken atrezik kanal primer olarak iletim tipi duyu kaybı ile bağlantılıdır (60).

Bunun yanında mikrotik kulakta tragus varlığı hastanın orta kulağının fonksiyonel olduğunu işaret eder (13). Mikrotiada orta kulağın normal olması çok nadirdir fakat orta kulağın durumu dış kulak deformitesi ile direk ilişkili değildir. Dismorfik özelliklerin ciddiyeti ile duyu kaybının derecesi arasında ilişki

bulunamamıştır. Bu nedenle mikrotia deformitesi hangi klinik ağırlıkta olursa olsun radyolojik tetkik ve duyu değerlendirmesi her mikrotialı çocukta gereklidir. Unutulmamalıdır ki orta kulak embriyolojik olarak dış kulaktan sonra gelişmektedir. Bu nedenle, relatif olarak tek taraflı minör deformiteli hasta genellikle iyi duyar ve konuşur. Mikrotik kulakta belirgin anatomik kalıntıların olup olmaması ile fonksiyon arasında bir ilişki yoktur.

Mikrotik hastalarda sensörinöral, ileti ya da miks (sensörinöral ve ileti) tip duyu kaybı olabilir. Mikrotia/aural atrezili hastaların büyük çoğunluğundaki (%80 -90) duyu kaybı iletim tipidir. Bunun yanında bu hastaların %10 ila 15'inde sensörinöral duyu kaybına rastlandığı da unutulmamalıdır.

2.4.6. Orta Kulak Rekonstrüksiyonu ve Kanal Plastisi

Eğer mikrotialı hastada orta kulak rekonstrüksiyonu gerekli görülüyorsa, kulak rekonstrüksiyonu ile koordine yapılmalıdır ve kanal pozisyonu, fleplerin vasküler aksı, dış kulak rekonstrüksiyonunda yapılacak insizyonların yeri göz önünde bulundurulmalıdır. Aksi takdirde kulak rekonstrüksiyonunda fazladan bir ameliyat daha gerekebilir. Bu tip hastalarda ameliyatın planlaması hususunda hem kulak burun boğaz hem de plastik cerrahi uzmanı kendi açılarından biraz daha esnek davranmalıdır. Brent geniş vaka tecrübelerine dayanarak, orta kulak cerrahisini kulak rekonstrüksiyonunun sonrasına bırakmanın çoğu hastada daha uygun olacağını ifade etmiş ve bunu mikrotialı hastalarda standart yaklaşım olarak benimsemiştir (61-65). Farklı yazarlar atrezi onarımı ve kulak rekonstrüksiyonunun basamaklara bölündüğü, öncelikle oluşturulan kıkırdak çatının deri altına yerleştirildiği, takip eden 3 ila 5 prosedürde de atrezi onarımının yapıldığı bütünleşmiş protokoller önermişlerdir. Her iki yaklaşımda da başarılı sonuçlar alınabilmektedir. Bunun yanında, her iki teknikte de başarılı olabilmek için her iki cerrahi branşın rekonstrüktif amaçları göz önünde bulundurup birlikte planlamalar yaparak, ekip çalışması şeklinde cerrahiyi gerçekleştirmeleri doğru bir yaklaşım olacaktır.

2.4.7. Tedavi

2.4.7.1. Kulak Rekonstrüksiyonu Tarihçesi

Kulak onarımlarında en büyük gelişme Tanzer tarafından otojen kostal kıkırdağın solid bir blok halinde kullanılmaya başlaması ile olmuştur.

Kulak onarımlarında karşılaşılan ilk belgeler kulağın doğumsal anomalilerinden çok kazanılmış deformitelerine yönelik girişimler olarak karşımıza çıkmaktadır. 1594'de Tagliacozzi kulağın hem alt hem de üst polünün onarımında retroaurikular flepleri tanımlamıştır. Kulak ile ilgili anomalilerden ilk bahseden Bartholinus olmuştur. Dieffenbach kulağın orta bölümünün onarımlarında ilerletme flebini ve heliks onarımında mastoid flebini tanımlamıştır.

19. yüzyılın sonların doğru ise cerrahların ilgisi doğumsal anomalilere yönelmiş ve özellikle kepçe kulak (prominent ear) deformitesi üzerinde oldukça fazla durulmuştur. İlk kulak onarımı, kulak memesi onarımında yanak flebinin kullanılmasını öneren Susruta Samhita'ya atfedilir. Kulak onarımları ile ilgili en önemli gelişmelerin 20. yüzyılda olduğu görülmektedir. Otolog kıkırdağın kullanıma girmesini bu alanda çeşitli yöntemlerin geliştirilmesi takip etmiştir. 1920 yılında ilk olarak Gillies, kulak onarımında kostal kıkırdağın kullanılmasını tanımlamıştır. Gillies tanımladığı tekniğinde, kostal kıkırdağı mastoid derisi altına gömmüş ve daha sonra kaldırarak posteriorunu servikal fleple kapatmıştır. Pierce 1930 yılında bu tekniği modifiye ederek yeni sulkusun örtüsünü deri grefti ile sağlamış ve heliks yapısını tüp fleplerle oluşturmuştur. 1937 yılında Gillies, anneden aldığı kıkırdak grefti ile homolog kulak onarımını yapmış olsa da, sonuçlar rezorbsiyon nedeniyle başarısız olmuştur. Peer'de 1948 tekrar otojen kostal kıkırdağa dönmüş ve kostal kıkırdağı küp şeklinde keserek vinalyum kalıp içinde karın derisine gömmüştür. Beş ay sonra kalıbı yerinden çıkartarak kulak onarımında kullanmıştır. Skar kontraksiyonu nedeni ile elde edilen sonuçlar yüz güldürücü olmasa da bu tekniğin tanımlanması aurikula onarımlarında otojen kıkırdağın kullanılmasına yönelik ayrı bir gayret getirmiştir.

Kulak rekonstrüksiyonunda çağdaş dönem, otojen kostal kıkırdak greft tekniğini bir kulak rekonstrüksiyon tekniği olarak yeniden tanımlayan, Tanzer ile başlamıştır. Tanzer'in sonuçları, 4 aşamalı kulak rekonstrüksiyon tekniğini modifiye eden, geliştiren ve standardize eden Brent'e ilham kaynağı olmuştur. Nagata ise mikrotia onarımının 2 aşamada yapıldığı daha karmaşık ve yoğun olan kendi tekniğini tanımlamıştır. Nagata'nın tekniği Brent'in tekniğine nazaran daha çok kıkırdak gerektirirken kıkırdak çatı daha yüksek profilli ve daha detaylıdır.

Doğumsal kulak deformitelerinin onarımında otolog dokuların yerine inorganik materyallerin kullanımı Rubin'in 1948 yılında polietilen bloğu kulak çatısını oluşturmak için kullanması ile başlamıştır. Daha sonraki dönemlerde Hermann ve Zuchke akrilikten hazırlanan çatıları kullanmışlarsa da bu konudaki en ciddi çalışmalar Cronin'e aittir. Cronin silikondan imal edilen kulak çatısını kullanmıştır. Ancak diğer inorganik implantlarda olduğu gibi (polietilen, naylon ağ, marleks, polyester, teflon, vs.) ciddi bir ekstrüzyon problemi ile karşı karşıya kalmıştır. Bu problemi çözmek için silikonu örtmek amacıyla fasya lata, galea flepleri kullanmış ancak başarılı olamamıştır. Fax ve Edgerton (66) 1976 yılında temporapariyetal fasya kullanımını önermiş ve bunun üstünlüklerini savunmuşlardır. Sonraki dönemde kulak onarımında doku genişleticilerin kullanımı ortaya atılmıştır. Albrektsson (67) osteointegre implant (epitez) ile kulak rekonstrüksiyonunu tanımlamıştır. Son yıllarda doku mühendisliğindeki ilerlemeler, kıkırdak kültürü yöntemi ile kulak çatısı oluşturulması çalışmalarına hız katmıştır. Vacanti 1992 (68,69) yılında sentetik polimer yapı üzerinde in vitro olarak kondrosit kültürü oluşturma denemelerinde bulunmuştur. 1999 yılında Rodriguez ve Cao(70) insan kulağından alınan elastik kartilajdan kondrosit polimeri hazırlayarak bunu atimik fareye implante etmiş ve 8 hafta sonra immatür yapıda kıkırdak kültürü hazırlamışlardır.

2.4.7.2. Cerrahinin Zamanlaması

Mikrotik kulak rekonstrüksiyonu için en uygun zamanın karar verilmesinde dış kulak gelişimini tamamlama yaşı, yeterli kostal kıkırdak için uygun donör alan bulunması, okul yaşı ve arkadaşlarınca alay konusu olma riski göz önünde bulundurulmalıdır (71). Her ne kadar 10 yaşına kadar kulağın enine büyümesi devam etse de 3 yaşına kadar kulak gelişiminin %85'ini tamamlar (72). Kostal kıkırdağın genellikle yeterli boyutlara gelmesi, okul öncesi çağıdır (5-6 yaş). Bunun yanında onarım sonrası otolog kıkırdak çatı normal kulakla karşılaştırılabilir oranda büyürken, bazen daha fazla büyür. Brentin 5 yıllık takiplerinde, %48 oranında rekonstrükte edilen kulağın aynı oranda, %41.6 hastada normal kulaktan birkaç milimetre fazla, %10.3 hastada ise normal kulağın 1-2 cm gerisinde kaldığı saptanmıştır (73). Bu gibi faktörleri göz önüne alarak Brent ve diğer bir çok cerrah rekonstrüksiyon yaşını okul öncesi dönem olan 4-6 yaş olarak tavsiye ederlerken, Nagata ve onun tekniğini benimseyen diğer cerrahlar rekonstrüksiyon yaşını 10 yaş olarak benimsemişlerdir (Tablo 3).

2.4.7.3. Cerrahi Teknikler

Günümüzde mikrotia rekonstrüksiyonunda 3 seçenek bulunmaktadır:

1. Otojen rekonstrüksiyon
2. Bir alloplastik kulak iskeleti kullanılarak kompozit otojen/alloplastik rekonstrüksiyon
3. Prostetik rekonstrüksiyon

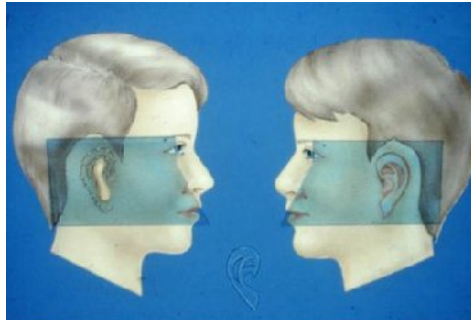
2.4.7.3.1. Otojen Kosta Kıkırdağı ile Rekonstrüksiyon

Birkaç aşamadan oluşan farklı kulak rekonstrüksiyonu teknikleri tanımlanmış olup bu aşamalar deformitenin ağırlığı, boyutu, pozisyon ve mikrotik elemanların kalitesi ve cerrahın tercihine bağlı değişir.

Tanzer 4 aşamalı rekonstrüksiyonunun öncüsüdür (71). Birinci aşamada, lobüler kalıntıyı doğru anatomik pozisyonuna transpoze etmiştir. İkinci aşamada, mikrotik tarafın karşısındaki 6, 7 ve 8. kot kırkırdaklarını sub-perikondrial olarak alıp lobülün arkasından V şeklinde yaptığı insizyonla mastoid deri altına implante etmiştir. Altı ve 7. kosta kırkırdakları taban ve antiheliks, 8. kosta kırkırdığını ise helikal rim olarak kullanmış. Oyularak şekil verilen parçaları ince tel sütür ile birbirine tutturmuş. Üçüncü aşamada ise, üzerindeki deri ile yerleştirdiği kırkırdak çatıyı kaldırmış. Kulak arkası deriyi ilerleterek ve kulak arkasına tam kalınlıkta deri grefti koyarak kulak arkası sulkusu oluşturmuş. Sonrasında karşı taraf kulaktan alınan kompozit deri/kırkırdak grefti ile konka ve tragusu oluşturmuş. Tanzer daha sonra bu tekniği modifiye ederek lobül transpozisyonu ve kırkırdak çatı yerleştirilme aşamalarını tek bir aşama haline getirmişse de geniş diseksiyon ve cerrahi manüpilasyon gereken durumlarda vasküler problemlere bağlı oluşacak lobül nekrozu komplikasyonundan kaçınmak için en iyi rekonstrüksiyonun 4 aşamalı rekonstrüksiyon olması gerekliliğini vurgulamıştır (74).

Son 30 yılda Tanzer'in tekniği farklı modifikasyonlarıyla defalarca yayınlanmakla birlikte, bu tekniklerden yalnızca Brent ve Nagata'nın iki tekniği plastik cerrahi camiasınca kabul görmüş ve kullanımı yaygın hale gelmiştir (31,61-65,75-79,)

Brent hazırlanan çatının cilt altına yerleştirilmesi sonrasında cildin kalınlığının hesaba katılması gerektiğini, hazırlanacak çatının birkaç milimetre küçük hazırlanmasını önermektedir. Yeni kulağın lokalizasyonu, karşı tarafın topografik ilişkileri kaydedilerek belirlenir (Resim 10).

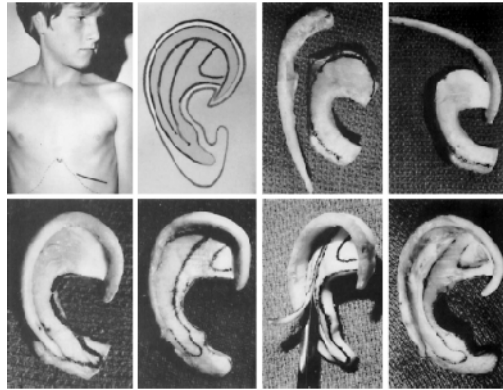


Resim 10. Mikrotik kulak onarımında kulak pozisyonunun planlanması

Tablo 3. Mikrotia rekonstüksiyon tekniklerinin karşılaştırması

	Brent	Nagata	Park	Firmin	Bauer
Yaş, donör alan	4-6+ Karşı taraf Kosta	10+ Aynı taraf kosta	10-12+ Aynı taraf kosta	10+ Aynı taraf Kosta	10+ Karşı taraf kosta
Aşama Postauriküler sulkus	3-4 KKDG	2 6.kot grefti, TPF ve KKDG	1-3 Postauriküler fasiyal flep, KKDG	2 6.kot grefti, TPF ve KKDG	2-3 Kot grefti, postauriküler fasya ve KKDG
Tragus	Kompozit konkal greft (3. aşamada)	Kot kırırdağı; anterior ve posterior deri flepleri (1. aşamada)	Kot kırırdağı; anterior ve posterior deri flepleri (en son aşamada)	Kot kırırdağı; anterior ve posterior deri flepleri (1. aşamada)	Konka tabanlı deri flebi ve deri grefti (1. aşamada)
Kulak İskeleti	Heliks ve taban 1. aşamada	Tragus dahil tüm çatıyı 1. seansta yerleştirir	Tüm çatıyı 1. seansta deri ve fasya flebi arasına yerleştirir	Tragus ile birlikte tüm çatıyı 1. Seansta	Tragus ile birlikte tüm çatıyı 1. seansta

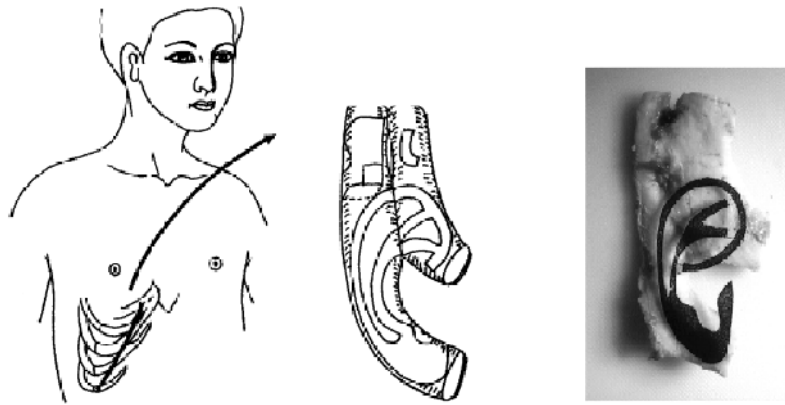
KKDG; kısmi kalınlıkta deri grefti, TPF; temporopariyetal fasya

**Resim 11.** Brent'in tekniğinde kıkırdak iskeletin oluşturulması (62)

Brent ve Tanzer'in önerdiği şekilde kostal kıkırdak, rekonstrükte edilecek tarafın karşı tarafından tek parça olarak sağlanır. Nagata ise grefti mikrotik taraftan almayı tercih etmiştir. Tanzer ve Brent tanımladıkları yöntemde 6, 7 ve

8. kotların kullanımını önermektedir. Kıkırdağın arka yüzündeki perikondrium daha sonra burada yeniden kıkırdak oluşumu ve toraks deformitelerinin oluşumunu önlemek için korunmalıdır. 6. ve 7. kostal kıkırdakların sinkondrotik kesimleri kulak iskeletinin hazırlanmasında, 8. kostal kıkırdak ise heliks yapısının oluşturulmasında kullanılmaktadır (Resim 11). Kosta grefti alınan kesime negatif basınçlı dren yerleştirilmelidir. Dren ameliyat sonrası 3–4. günde çekilmelidir.

Nagata iki aşamalı bir operasyon ile kulağın ana yapılarını içeren kulak çatısını süperfisyel temporal fasya flebi ile kombine ederek başarılı kulak rekonstrüksiyonunu tanımlamıştır (75-79). Nagata ayrıca Brent'ten farklı olarak 9. kostayı da çatı oluşturmada kullanmıştır. (Resim 12) Nagata'nın tekniği 2 aşamadan oluşup, varolan mikrotia tipine (lobüler, küçük konka, anotia, düşük saç çizgisi) bağlı teknik varyasyonlar içermektedir (75-79). Bununla birlikte heliks, krura, antiheliks ve konkal elemanlara ek olarak bu teknikte insisura intertragika ve tragus ta rekonstrüksiyonun anahtar elemanlarıdır.

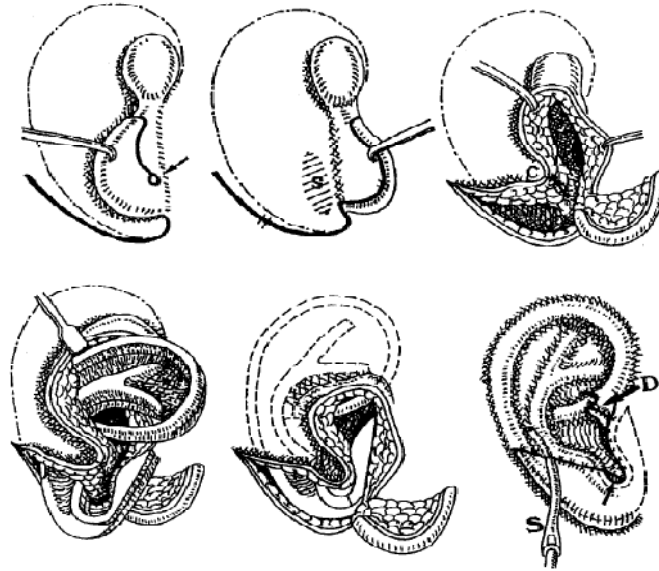


Resim 12. Nagata'nın tekniğine uygun kostal kıkırdak grefti alınması (75)

Hazırlanan kıkırdak greftinin yerleştirileceği uygun cilt cebinin hazırlanması ve çatının implantasyonu rekonstrüksiyonun önemli bir aşamasıdır. Cebin hazırlanması esnasında, çatı için uygun bir vasküler örtü oluşturulmasına özen gösterilmelidir. Cep, sağlam kulağın yapısı ve konumu göz önüne alınarak hazırlanmalı ve buna uygun lokalizasyonda ve konumda olmalıdır.

Kulak artıklarının ön tarafından küçük bir insizyon yapılır ve buradan yapılan keskin diseksiyon ile cilt flebi kaldırılır. Cerrahi diseksiyon esnasında subdermal vasküler pleksusun korunmasına gayret gösterilmelidir. Şekilsiz kıkırdak artıkları deriden disseke edilerek çıkarılmalıdır. İskeletin yerleştirileceği cep iskeletten bir-iki santimetre daha büyük hazırlanmalı, sınırları arka ve üstte saç hattına, altta boyun bölgesine kadar olmalıdır

Nagata posterior lobül ve mastoid derisini, çatının konkal kısmını kapamak için kullanmıştır. Tanzer tarafından kullanılan “V” şeklindeki posterior lobül insizyonunu, “W” şeklinde yaparak çatı yüzeyini örtecek olan deri miktarını arttırmıştır (Şekil 6). Nagata bu işlemle aynı zamanda da lobül transferini ilk seansta yaparak kulak rekonstrüksiyonundaki cerrahi aşamaları kısaltmıştır.



Şekil 6. Nagata'nın cep oluştururken kullandığı W-insizyon (77)

Çatının fabrikasyonunda cerrahi amaç, kulağın tüm anatomik yapılarının birebir şeklinin oluşturulmasıdır. Şekillendirmede kondrosit hasarı oluşturmamak için çok güçlü aletler kullanılmamalı ve kıkırdağa hassas davranılmalıdır. Kıkırdak parçalarını birbirine tuttururken sütürlerin çatı altında kalmasına özen gösterilmelidir.

Tanzer önceleri iskelet ve üzerindeki flep arasındaki uyumu sağlamak için bolster sütür kullanmış, fakat daha sonra vakum kullanılarak bunu daha iyi

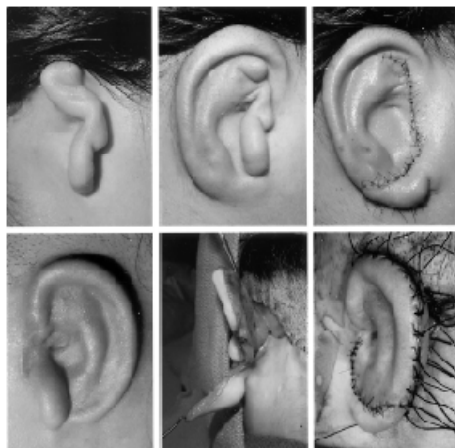
sağladığını, sıvı birikiminin önlendiğini, cildin iskelete uyumunun arttığını, helikal rim boyunca flep nekroz riskinin azaldığını ortaya koymuştur.

Tanzer cerrahi işlemler arasında minimum 4 ay, Brent ise üç aylık periyodun yeterli olacağını savunmuştur. Günümüzde çoğu yazar bir sonraki operasyonun ilk operasyondan 6 hafta sonra yapılabileceğini savunmaktadır. Karşı kulaktan alınan eliptik kondra-kutanöz kompozit greft ile tragus oluşturulurken, tragal flep altında yumuşak doku eksizyonu ile ya da yumuşak doku eksizyonu ile birlikte uygulanan bir deri grefti konkayı derinleştirebilir. Kompozit greft, J insizyonu ile iskeletin anterioruna yerleştirilebilir. Oluşan yeni tragus yapısı bölgeyi gölgelendirerek meatus izlenimi verebilmektedir.

Yeni oluşturulan kulak kaldırılırken bir takım önemli noktalar mevcuttur.

1. Aurikuosefalik açı normal kulağa yakın olmalıdır.
2. Rekonstrüksiyon uygulanan kulak kaldırılırken dolaşımının bozulmamasına dikkat edilmelidir.
3. Ön yüzdeki anatomik yapıların ve konturun korunmasına özen gösterilmelidir.
4. Kaldırılan kulak çatı, saçlı deri içermemelidir

Postaurikular kenar, kulağı kafadan ayırarak belirlenir ve buraya KKDG ya da TKDG yerleştirilir (Şekil 13).



Resim 13. Kulağı mastoid bölge derisinden kaldırma ve lobül transferi aşamaları (Brent) (65)

Bu işlem ödem geçene ve kulak detayları tamamıyla ortaya çıkana kadar yapılmamalıdır. İşlem esnasında rimin birkaç mm gerisinden kıkırdak iskelet üzerinde koruyucu bir bağ dokusu bırakılarak insizyon yapılır. Kulak arkası deri, yeni oluşturulan aurikulosefalik sulkusa kadar ilerletilir. Greft bohça pansuman ile kapatılır.

Dikkatli bir ameliyat sonrası bakım, başarılı bir kulak rekonstrüksiyonu için zorunludur. Yeni oluşturulan kulak enfeksiyon ve vasküler komplikasyonlar yönünden sıkı takip edilmelidir. İyileşme gerçekleşikten sonra otojen doku ile onarım uygulanan kulağa özel bir bakım gerekli değildir. Helikal rimin düzleşmemesi için hasta diğer tarafının üzerine en az bir ay süreli yatmamalıdır. Yumuşak yastık, hasta uyku esnasında döndüğünde bir koruma sağlar. Yapılan araştırmalarda otojen doku ile onarım uygulanan kulağın travmaya normal kulak kadar dayanıklı olduğunu ortaya koymuştur. Çocuklar 2.5–3 hafta sonra okula gidebilir ancak toraks iyileşmesi açısından sportif aktivite ilave olarak 3 hafta daha yasaklanmalıdır.

2.4.7.3.2. Komplikasyonlar

Hangi teknikle yapılıyor olursa olsun, kostal kıkırdak ile yapılan kulak rekonstrüksiyonlarında hem donör alan hem de rekonstrüksiyon alanında oluşan bazı komplikasyonlar kaçınılmazdır.

2.4.7.3.2.1. Donör Alan Komplikasyonları

Kostal kıkırdağın alınmasına bağlı erken dönem komplikasyonlar pnömotoraks ve atelektazi, geç komplikasyonlar göğüs duvarı deformitesi ve skardır (80). Ohara ve arkadaşlarının mikrotiada göğüs duvarı deformitesi araştırmasında, 18 mikrotik kulak rekonstrüksiyonu yapılan hastanın toplam 32 donör alan incelemesine göre, 10 yaşın altındaki hastalarda göğüs duvarı deformitesinin %64, daha büyük çocuklarda ise bu oranın %20 olduğunu saptamıştır (82). Bu nedenle Ohara, mikrotik kulak rekonstrüksiyonunun

mümkün olduğunca 10 yaş sonrasına bırakılmasının uygun olacağını savunmuştur. Bu görüş doğu kültüründe batıya göre daha fazla kabul görmüştür, ancak batı kültürünü benimseyen klinisyenler mikrotik kulaklı çocukların üzerinde bu durumun psikolojik baskı oluşturmaması ve bu çocukların sosyalleşebilmesi açısından okul öncesi dönemde rekonstrüksiyonun yapılması gerektiğini savunmuşlardır. Nagata tarafından önerilen, kıkırdağı arka perikondriumunu intakt bırakarak alınması oluşabilecek deformitenin ağırlığını azaltacaktır (82).

Kosta kıkırdağı alınması, ameliyat sonrası ağrı ve rahatsızlık verici bir durum olup ağrı kontrolü için cerrahi alana ince infüzyon kateteri yerleştirilerek ameliyat sonrası dönemde bupivakain ve diğer lokal anesteziğin infüzyonu hastanın ameliyat sonrası dönemi daha huzurlu geçirmesini sağlayacaktır.

2.4.7.3.2.2. Kulak Rekonstrüksiyon Bölgesi Deformiteleri

Rekonstrükte edilen bölge derisinin nekrozuna bağlı kıkırdak iskeletin görünür olması, tüm iskeletin çıkarılmasını dahi gerektirebilir. Flep dolaşım probleminin mevcut olduğu durumlarda, dren basıncını azaltarak, pansumanı daha da rahatlatarak erken dönemde önlem almak gerekir. Nekroz kaçınılmaz ise lokal deri ya da temporal fasya flebi gibi flepler yararlı olabilir. Sıkça karşılaşılan 1cm'den küçük deri kayıplarına konservatif yaklaşarak oluşan defektin sekonder iyileşmeye bırakılması doğru olacaktır. Ancak, küçük bir defekt bile kulak rekonstrüksiyonunun nihai sonucunu etkileyeceğinden mümkün olduğunca bu gibi komplikasyonlardan kaçınmakta yarar vardır.

Ameliyat sırasında subdermal pleksusu koruyarak dikkatlice yapılan diseksiyon ve deri fleplerini kıkırdak iskelete tutturma işlemleri komplikasyonsuz ve başarılı bir sonucun anahtarlarıdır. Baskılı pansumandan daima kaçınılmalıdır (73). Enfeksiyon çok sık görülen bir komplikasyon değildir (%0.5) fakat, iskeletin ekspoze olduğu durumlarda ya da orta ve iç kulak enfeksiyonlarında enfeksiyon riski artar. Bu nedenle ameliyat öncesinde otitis ve kolesteatoma varsa, tanısının konarak önce enfeksiyonun tedavi edilmesi daha

doğru bir yaklaşım olacaktır. Ameliyat sırasında dikkatli hemostaz yaparak ortalama %0.3 olan hematoma riskini azaltmış oluruz.

Sütür materyalinin cilt altından görünür hale gelmesi ve kıkırdak erimesi, rekonstrükte edilen kulakta gelişebilecek geç dönem komplikasyonlarından olup kulağın şekil ve formunda değişikliklere neden olabilir. Kıkırdak rezorpsiyon sebebi iyi araştırılıp yeni rekonstrüksiyonda da aynı problemle karşılaşılması açısından önemlidir. Sütürlerin fazla sıkı atılması ya da iskeletin yerleştirildiği derinin iskemik ya da skarlı olması, steril olmayan koşullarda çalışma rezorpsiyonun başlıca nedenlerindendir. Bazen de kıkırdağın sinkondroz bölgesindeki kısmının erimesine bağlı kıkırdak iskelette deformitelere rastlanabilir.

2.4.7.3.3. Protetik/Osteointegrasyon ile Kulak Rekonstrüksiyonu

Protezlerin implant ile yerine tutturulması tanıtılmadan önce, protez rekonstrüksiyonu yapıştırılarak yerinde tutma yöntemine bağlı ve uygulaması zor idi. Branemark'ın kemiğe yerleştirilmiş titanyum implantları protetik rekonstrüksiyonu bir dereceye kadar daha pratik hale getirmiştir. İmplantoloji ve protetik malzemelerdeki son gelişmeler kemiğe entegre protezler ve kulak protezlerinde mükemmel yakın sonuçların elde edilmesini sağlamıştır.

Çocuklar protez için iyi aday değildirler (Tablo 4). Sıklıkla protezleri taşımayı kabul etmezler. Ayrıca çocuklar, çevre doku ve protezi tutan desteklerin (implant) gerektirdiği bakımdan sıkılırlar (82,83). Eğer yeterli hijyen devam ettirilmez ise, deri/implant ara yüzü iltihaplanır ve iltihaplanmanın düzelmesini beklemek için protezin kullanılmasına ara verilir ya da kullanmaktan vazgeçilir. Protezin her gün takılıp çıkartılması deformitenin sürekli hatırlatıcısı gibi görev yapar. Buna karşılık, otojen rekonstrüksiyonlu çocuk yeni kulağını kendi parçası olarak algılar. Son olarak, protezler otojen rekonstrüksiyonun sıcaklığından ve dokunulduğunda verdiği duygudan yoksundurlar ve olağanüstü detaylarına rağmen canlı gibi değildirler.

Protezlerin hastanın yaşamı sırasında birkaç yılda bir değiştirilmeyi gerektirdiğini de belirtmek önemlidir, ondan dolayı, prostetik rekonstrüksiyon uzun süre içerisinde otojen rekonstrüksiyondan daha pahalı olur.

Bir mikrotialı çocuğa prostetik rekonstrüksiyon yapmak için tek kesin endikasyon, sekonder bir otojen veya medpor rekonstrüksiyonu uygulamak için gerekli yumuşak dokuların yetersizliği nedeni ile otojen rekonstrüksiyonun uygulanamıyor olmasıdır.

Tablo 4. Allojenik materyallerin dezavantajları

Allojenik materyallerin dezavantajları;

- ✓ Otolog dokulara göre ekstrude olma riski daha yüksektir.
- ✓ Enfeksiyona eğilim daha yüksektir.
- ✓ Oluşturduğu immün yanıt halen bilinmemektedir.
- ✓ Geç dönem etkileri henüz tam olarak ortaya konamamıştır.

2.4.7.3.4. Kompozit Otojen/Alloplastik Rekonstrüksiyon

Bu teknikte, kosta kırıkdağı yerine gözenekli polietilen'den (Medpor) oluşturulmuş bir kulak iskeleti kullanılır. Reinisch başlangıçta implantın açığa çıkma oranını %42 olarak rapor etmiştir. İskeleti temporoparietal flep ile sararak tekniğini modifiye etmiş ve komplikasyon oranının büyük çapta azaldığını belirtmiştir (84).

2.4.7.3.5. Kulak Rekonstrüksiyonun Geleceği

Rekonstrüktif Plastik Cerrahların çoğunluğu kulak iskeleti oluşturulmasında kullanılabilir tüm alternatifler içerisinde otolog kırıkdağın üstünlüğünü kabul etmektedir. Fakat kırıkdağ grefti donör alanı olarak kullanılan göğüs duvarına alternatif bir yöntemin keşfi ile şu an kulak rekonstrüksiyonunda çağ atlamış olacağız. Otolog dokunun prefabrikasyonu ve doku mühendisliği bilimin henüz gelişmekte olan konularındandır. Vücudun komplike bir kısmının doku

mühendisliği pek de yeni bir konu değildir. Komplike kısımların oluşturulmasını önerenler başlangıçta dokuyu kalıplama yolu ile üç boyutlu yapıyı oluşturmaya çabaladılar (85). Ne yazık ki bu iskelet sabit yapıda olmadığından, zaman içerisinde verilen şeklini koruyamayarak kaybolmuştur. Bu problemi çözmek amacıyla Walton ve arkadaşları, farklı alloplastik kulak iskeletleri üzerini deri ve fibrovasküler stroma ile başarılı bir şekilde kaplamıştır (86). Bununla birlikte alloplastik materyaller ciltte deformasyonlar ve ekstrüzyonlara neden olmaktadır. Bu nedenle, kulak gibi karmaşık doku bölümlerinin doku mühendisliği ile oluşturulmasında iskelet oluşturma kritik öneme sahiptir. Dökümente edilen otolog materyallerle ilgili klinik deneyimlere göre kulak rekonstrüksiyonu başta olmak üzere her tür rekonstrüksiyonda iskelet oluşturulmasında biyolojik/otojen materyallerin üstünlüğünü öngörmektedir (68,69). Sentetik, biodegrede edilebilir iskelet üzerinde fareye transplante edilen sığır kondrositleri, özel koşullarda de novo kıkırdak oluşturabildiğini göstermişlerdir. Özel kalıplara yerleştirildiğinde, bu oluşan yeni kıkırdağa (de novo neocartilage) komplike, üç boyutlu şekil ve konfigürasyonlar verilebildiği farklı otörlerce kanıtlanmıştır (87,88). Bununla birlikte, bu deneylerde kullanılan kondrositler, insan dışı fetal dokulardan derive edilmiş olup insanda uygulanabilirliği şüphelidir. Kosta ve kulak gibi birçok dokudan insan kondrositleri ayrıştırılmıştır. Daha genç olan yaş gruplarında, sonunda bu kondrositler, sayılarını replike etmek ve immatür kıkırdak oluşturmak amacıyla başarılı bir şekilde indüklenmiştir (70,89). Her ne kadar oluşturulan yeni kıkırdağın dayanıklılığı henüz gösterilemese de konsept ve teknoloji ümit vericidir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma Helsinki Deklarasyonu Kararlarına, Hasta Hakları Yönetmeliğine ve etik kurallarına uygun olarak yapılmış olup, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan onay almıştır. (Etik Kurul Tarihi: 19.02.2009, Karar No: 02-2009/23) Hasta ve ebebeynlerine bilgi verilerek onam formları imzalatılmıştır.

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Şahinbey Araştırma ve Uygulama Hastanesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı'nda, son 1.5 yılda, mikrotia tanısı ile başvuran ve ameliyat edilmiş yaşları 7 ila 19 arasında (ortalama 11.2) 21 çocuk hasta çalışmaya dahil edildi (9 kız, 12 erkek). (Hastaların demografik özellikleri Tablo 5'te ayrıntılı olarak verilmiştir.) Kontrol grubu için ise sağlıklı, bireysel mikrotia, herhangi bir sendrom ya da genetik hastalık tanısı almamış aynı yaş grubundan 21 kişi seçildi. Çalışmaya dahil edilen mikrotialı hastaların ameliyatlarının tümü aynı cerrahi ekip tarafından opere edildi.

Çalışmamıza dahil edilen mikrotia tanısı almış ve opere edilen hastaların 13'ünün, anne, baba ve kardeşlerinden de kan örnekleri alındı. Operasyon sırasında histopatolojik ve ileride yapılacak DNA-RNA düzeyindeki incelemeler için kalıntı kulak kıkırdagından doku örnekleri alındı. Ayrıca kontrol grubu olarak başka bir nedenle kıkırdak ile ilgili operasyon geçiren hastaların burun, kot, kulak gibi bölgelerden kıkırdak doku örnekleri ile birlikte kan örnekleri alındı.

3.1. CERRAHİ TEKNİK

3.1.1. Ameliyat Öncesi Hazırlık

Tüm hastaların ameliyat öncesinde sağlam kulağının fotoğrafı çekilerek oluşturulacak kulağa örnek olarak ayna görüntüsü fotoğrafı bastırıldı. Bilateral

olgularda hasta ebebeyn ya kardeşlerin kulak fotoğrafları örnek olarak alındı. Direk grafi filmi ile oluşturulacak çatının örneği oluşturuldu. Kulağın yerleştirileceği bölge sağlam tarafa simetrik olarak belirlendi ve işaretlendi. Tüm hastaların ameliyat öncesi ameliyat çizimleri ile resimleri çekildi (Resim 14).



Resim 14. Ameliyat öncesi hazırlık. Tip 1 mikrotialı hastada oluşturulacak kulak kalıbının kopyası ve oluşturulacak cebin planı görülmektedir.

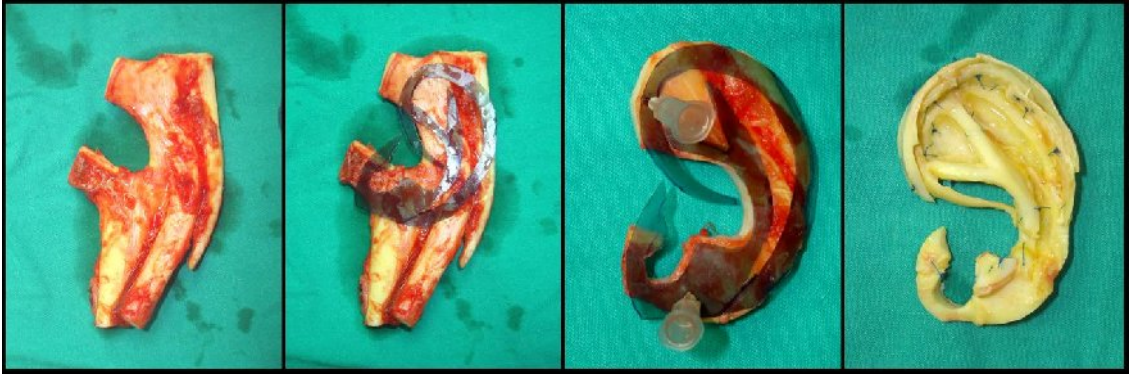
3.1.2. Ameliyat Tekniği

3.1.2.1. Birinci Seans

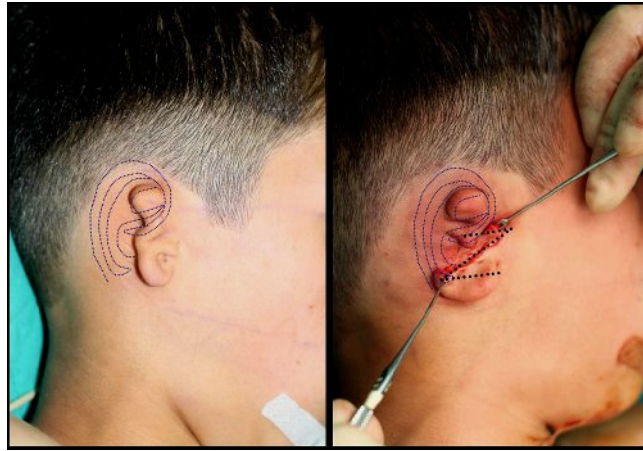
Mikrotia onarımında toplam 21 hastadan 21'ine de Nagata tekniğinin modifikasyonu uygulanmış olup rekonstrüksiyon 3 aşamada gerçekleştirilmiştir. 1. aşamada, mikrotik tarafın karşısından olmak üzere kız hastalarda inframammaryan folda uyan bölgeden, erkek hastalarda ise 7. interkostal aralık seviyesinden yapılan 5-6 cm'lik insizyonla 6, 7, 8 ve 9. kostalar sinkondroz bölgeleri dışından perikondrium donör alanda bırakılarak çıkarıldı. Aynı zamanda 2. ekip te cilt altı cebi oluşturdu. Cilt flebi hazırlanırken Z-plasti mantığı ile lobülü anatomik pozisyonuna getirecek biçimde insyon yapıldı. Flep kaldırılırken subdermal vasküler pleksusun korunmasına dikkat edildi. Kalıntı kıkırdığın tümü çıkartılarak çalışmamızın 2. aşamasında kullanılmak üzere -80 derece buzdolabında saklandı. Cerrahi sahanın kanama kontrolü yapıldıktan sonra rifosinli serum ile irrige edildi.

Kostal kıkırdak çatı oluşturulurken, direk grafi filminden hazırlanan kulak kopyasından faydalanıldı ve oyma işlemi sırasında 11 ve 15 numara bistüri ve guj kullanıldı. 6, 7 ve 8. kıkırdaklar iskeletin çatısını oluşturmak amacıyla

kullanılırken bu kıkırdaklardan artan parçalar antiheliks, tragus, antitragus yükseltmelerini oluşturmak için kullanıldı. Kıkırdak parçaları birbirine 4/0 yuvarlak prolen ile sütüre edildi (Resim 15,16,17). 9. kosta kıkırdağı boylu boyunca ortasından ikiye bölünerek heliks oluşturuldu. Kıkırdak iskeletinin oluşturulması sırasında, doğal kulak derisine nazaran nispeten kalın olan deri flebi göz önünde bulundurularak, skafa, triangular fossa gibi girintiler ile heliks, antiheliks antitragus ayrıntıları abartılı oluşturuldu. Bu işlemler sırasında kıkırdaklar antibiyotikli serum içerisinde muhafaza edildi.



Resim 15. Kostal kıkırdaktan kulak iskeleti oluşturulması aşamaları. Kıkırdağı oyma işlemi sonrasında kıkırdak parçaları birbirine düğüm iç kısımda kalacak şekilde sütüre edilerek tutturulmuştur. En sağdaki resimde kulağın heliks, antiheliks, tragus, antitragus gibi çıkıntılar ile skafa ve triangüler fossa gibi girintilerinin abartılı olarak oluşturularak kulak anatomik yapılarının birebir kopyalanmaya çalışıldığı görülmektedir.



Resim 16. Kulak lobülü transpozisyonu. Lacivert noktalı çizim oluşturulacak kıkırdak iskeletin yerleştirileceği bölgeyi ifade etmektedir.

Operasyon sonrasında drenler 5 gün kadar bırakıldı. Deri flebinin uç kısmında oluşan küçük dolaşım bozuklukları palyatif takip edildi.



Resim 17. Mikrotik hastanın ameliyat öncesi ve sonrası görüntüleri. Ameliyat öncesi (sol); ameliyattan hemen sonra (orta); 3.ay (sol)

3.1.2.2. İkinci Seans

İlk seans sonrasında 4 ay kadar sonra 2. seans operasyonları gerçekleştirildi. Bu seansta oluşturulan kıkırdak iskeletin skalpten kaldırılarak posterior sulkus oluşturma işlemi gerçekleştirildi. Kulağı kaldırma işlemi için Prantl ve arkadaşları (90) tarafından tanımlanan 2. seansta modifiye Nagata yöntemi kullanıldı. Bu yönleme uygun mastoid ve boyun bölgesinde posterior auriküler arter bazlı bir rotasyon flebi planlandı. Lokal anestezi altında helikal kıvrımın 1cm dış hizasından yapılan insizyonla kıkırdağın arka kısmında kıkırdak ekspozite olmayacak şekilde kulak eleve edildi. Kaldırılan deride kıl folikülleri varsa, kıl folikülleri eksize edildi. Yedi santimetrelilik bir insizyonla mastoid ve boyun bölgesinden fasiyo-kutan rotasyon flebi kaldırılarak kulak sulkusuna suture edildi (Resim 18).

Flebin gergin olduğu olgularda flebe back-cut işlemi uygulandı. Sağlam kulak arka kısmından alınan TKDG ile kulak arka kısmı kapatıldı. Flep altına küçük bir pernöz dren yerleştirilerek sutureasyon işlemi tamamlandı. Greft konan bölgeye bohça pansuman yapıldı ve greft alıcı alan primer suture edildi. Hasta taburcu edilerek 2. gün kontrole çağırıldı. Penröz dren çekilerek pansumana devam

edildi. Ameliyat sonrası 4. gün bohça pansuman açıldı. Hasta fotoğrafları çekilerek arşivlendi.



Resim 18. 2. seans kulağın kaldırılma işlemi. Rotasyon flebinin planı (1); flebin kaldırılması (2); flebin uygun pozisyonda sutureasyonu ve karşı taraf kulak arkası sulkustan alınan KKDG ile kulak arka kısım defektinin kapatımı (3); hastanın ameliyat sonrası 10. gün görüntüsü (4).

3.1.2.3.Üçüncü Seans

İkinci seanstan 3 ay sonra konka derinleştirilmesi ve gerektiğinde lobül pozisyonunun düzeltimi ve küçük ayrıntılar için revizyon işlemleri gerçekleştirildi. Lokal anestezi altında konkaya uyan bölgeye yapılan 2cm'lik cilt insizyonu ile cilt altı doku boşaltıldı ve oluşturulan konkal çukurluk, mastoid bölgeden alınan 1x1 cm'lik KKDG ile örtüldü ve bohça pansuman yapıldı (Resim 19). Tragusun yeterince oluşturulamadığı vakalarda diğer kulaktan alınan konkal kıkırdak grefti ile tragus rekonstrüksiyonu yapıldı. İlk seansta lobül repozisyonu yapılmasına rağmen gerekli görüldüğü takdirde tekrar müdahale edilerek anatomik pozisyonuna alındı.



Resim 19. 3. seans erken ve geç dönem görüntüleri. İlk seansta yeterli tragus projeksiyonu oluşturulamayan hastada (1) 3. seansta tragus ve konka oluşturulması, lobül revizyon işlemleri yapılmıştır (2), Kulak arka sulkus oluşturulması sonrası hastanın geç dönem görüntüsü (3)

3.2. ÖRNEKLERİN SEÇİMİ

Mikrotialı çocuğa sahip 13 aile olmak üzere toplam 21 hasta ve 21 kişilik sağlıklı kontrol grubundan oluşan bireylerden yazılı bilgilendirilmiş onam formu ile EDTA'lı tüplere kan örnekleri alındı. Tüpler üzerine birey isim ve verilen kod yazılarak kayda geçirildi. Kayda geçirilen kanlar, gruplandırılarak izolasyon aşamasına kadar -20°C 'de saklandı.

3.2.1. Tuzla Çöktürme Yöntemi ile DNA İzolasyonu

Miller ve ark. (91) tarafından oluşturulan bu yöntemde;

1. EDTA'lı tüpte bulunan ve oda ısısına getirilen 1 ml periferik kan 15 ml'lik falkon tüpüne aktararak üzerine 1:3 oranında eritrosit lizis tamponu ($0.155\text{M NH}_4\text{Cl}$; 10mM KHCO_3 ; $0.1\text{mM Na}_2\text{EDTA}$; pH 7.4) eklenir. $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 20 dakika bekletilip, 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir.
2. Örnek santrifüjden alınarak üzerindeki süpernatant atılır. Pellet üzerine 2 ml eritrosit lizis tamponu eklenir. Tekrar 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir ve süpernatant atılır.
3. Pelet üzerine 200 μl %10'luk SDS (Sodium dodecyl sulphate), 20 μl proteinaz K (20mg/ml) ve 1 ml WBL (White Blood-Cell Lysis) tamponu (75mM NaCl; 25

mM Na₂EDTA; pH 8.0) eklenerek 56°C'de su banyosunda gece boyunca bekletilir.

4. İnkübasyon sonrası üzerine 400 µl Amonyum asetat (9.5 M) eklenip iyice karıştırılır. 20 dakika +4°C ve 4500 rpm'de santrifüj edilir.

5. Süpernatant yeni bir falkon tüpe alınır, pellet atılır. Ayrı tüpe aktarılan supernatantın üzerine -20°C'de beklemekte olan %99'luk etanol'den 2 ml eklenir ve DNA'nın yüzeyde toplanması sağlanır.

6. Toplanan DNA pipet yardımıyla alınarak, 100 µl %70 etanol içeren bir eppendorf tüpüne aktarılır.

7. Maksimum hızda (13.000 rpm) 10 dakika santrifüj edilerek DNA çöktürülür ve süpernatant atılır.

8. Etüvde kapakların ağzı açık bırakılarak DNA üzerinde kalan alkol uzaklaştırılır.

9. Elde edilen DNA'nın miktarına göre 100–300 µl kadar TE (Tris-EDTA) tamponu (1M Tris-HCl; 0.5M EDTA; pH 8.0) eklenir.

10. 56°C'de 1 saat bekletilerek DNA'nın TE tampon içerisinde iyice çözülmesi sağlanır.

11. Elde edilen stok DNA'lar -20°C saklanır.

3.2.2. Tuzla Çöktürme Yöntemi ile Kandan DNA İzolasyonu İşleminde Kullanılan Araç ve Kimyasallar

1. 15 ml'lik Falkon Tüp
2. EDTA (Sigma)
3. SDS (Merck)
4. Amonyum Asetat (Merck)
5. Mezür

6. Erlen
7. Etanol (Sigma)
8. Mikropipetler (1-10 µl, 10-100 µl, 100-1000 Scorex, Rainin, Eppendorf)
9. Steril sarı ve beyaz pipet uçları (Eppendorf)
10. 1.5 ml'lik Eppendorf tüpleri (Axygen)
11. Eppendorf tüp taşıyıcıları
12. Vorteks (Heidolph Reaks Top)
13. Santrifüj Aleti (Sigma 1-15)
14. Su banyosu (Nüve BM 302)
15. Steril lateks eldiven

3.3. DNA AMPLİFİKASYONU

FGF3 geni *c.254delT* ve *p.Leu6Pro* bölgelerine ait bölgelerin analizi Tekin ve ark çalışmalasına göre sentezlettilererek analiz edildi (18).

3.3.1. PCR Kimyasal Konsantrasyonları

FGF3 Geni

c.254delT Primer dizileri (Thermo Electron):

Forward: 5' –GGA GTG AGG CAC CTC TCA TT-3'

Reverse: 5' – CCC TTG GCA AAG CAT TCT AC-3'

p.Leu6Pro Primer dizileri (Thermo Electron):

Forward: 5' – CCG GAG TCA GCA TCT CCA -3'

Reverse: 5' – CGC CAA GGT GCT CGT AGA C-3'

PCR karışımları aşağıdaki gibi hazırlanmıştır (örnek başına):

c.254delT için:

- ddH₂O : 15.3 mikrolitre
- Buffer : 2.5 mikrolitre
- MgCl₂ : 2 mikrolitre
- dNTP : 2 mikrolitre
- primer 1 : 1 mikrolitre (20 pmol konsantrasyonda)
- primer 2 : 1 mikrolitre (20 pmol konsantrasyonda)
- Taq : 0.2 mikrolitre
- DNA : 1 mikrolitre (150-200 ng)

* Polimeraz zincir reaksiyonu toplam 25 µl hacimde gerçekleştirildi.

p.Leu6Pro için:

- ddH₂O : 12.8 mikrolitre
- Buffer : 2.5 mikrolitre
- MgCl₂ : 2 mikrolitre
- dNTP : 2 mikrolitre
- DMSO : 2.5 mikrolitre
- primer 1 : 1 mikrolitre (5 pmol konsantrasyonda)
- primer 2 : 1 mikrolitre (5 pmol konsantrasyonda)
- Taq : 0,2 mikrolitre
- DNA : 1 mikrolitre (150-200 ng)

*Polimeraz zincir reaksiyonu toplam 25 µl hacimde gerçekleştirildi.

3.3.2. PCR Koşulları

✓ 94°C →	4 dakika	}	1 Döngü
✓ 94°C →	45 saniye		
✓ 60 °C →	45 saniye	}	35 Döngü
✓ 72 °C →	45 saniye		

✓ 72 °C → 7 dakika } 1 Döngü

✓ 4 °C → sonsuz

Amplifikasyon koşullarında hazırlanan karışım daha sonra PCR aletine konularak, istenen FGF3 gen bölgeleri çoğaltılmıştır (Resim 20).

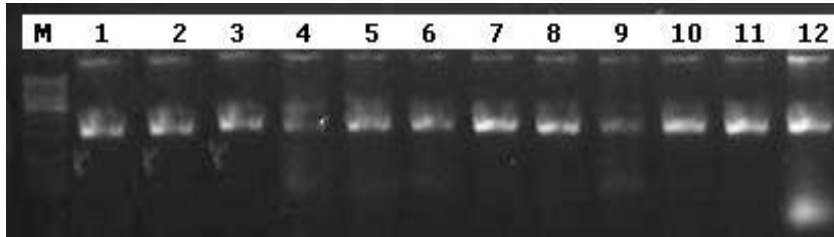


Resim 20. PCR aleti (gene Amp PCR System 9700)

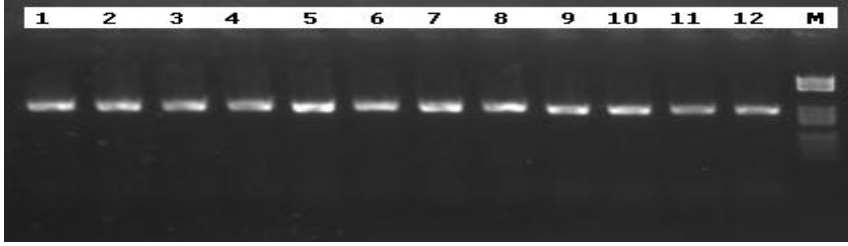
3.4. PCR AMPLİFİKASYONU SONUÇLARININ GÖRÜNTÜLENMESİ VE DEĞERLENDİRİLMESİ

3.4.1. Agaroz Jel Elektroforezi (Yatay Jel Elektroforezi)

FGF3 genine ait c.254delT ve p.Leu6Pro bölgelerinin PCR ürünleri amplifikasyonun kontrolü %2.5'luk agaroz jelde yapıldı (Resim 21,22).



Resim 21. c.254delT bölgesinin hasta ve kontrollerdeki PCR amplifikasyon örneği (M=DNA cetveli)



Resim 22. p.Leu6Pro bölgesinin hasta ve kontrollerdeki PCR amplifikasyon örneği (M=DNA cetveli)

3.4.2. Nandenatüre poliakrilamid jel elektroforez yöntemi ile 'Single Strand Conformation Polymorphism' (SSCP) bantlarının gözlenmesi

Akrilamid-bisakrilamid Solüsyonu:	Akrilamid	41.5 gr
	Bisakrilamid	1 gr
	Distile su ile 106 ml'ye tamamlanır.	
Tris-Borik asit-EDTA Tampon :	Tris-baz	0.89 M
	Borik asit	0.88 M
	Na ₂ EDTA	20 mM
Amonyum persülfat(%10) :	APS	0.1 gr/ml
	TEMED	35il
Yükleme Tamponu :	Formamid	%95
	Ksilen siyanol	%0.05
	Brom fenol mavisi	%0.005
	NaOH	10 mM

3.4.3. SSCP Analizi

SSCP analizi, bilinmeyen mutasyonlar için ön tarama amaçlı kullanılan bir mutasyon analiz yöntemidir. SSCP analizinin uygulanmasında; düz ve kulaklı camlar %95'lik etanol ile silindikten sonra düz cama 1 ml yapıştırıcı solüsyon döküldü ve kağıt havlu ile camın her tarafına yayıldı, kulaklı cama ise 1ml silikon solüsyonu dökülerek aynı şekilde kağıt havlu ile cama yayıldı. Düz ve kulaklı

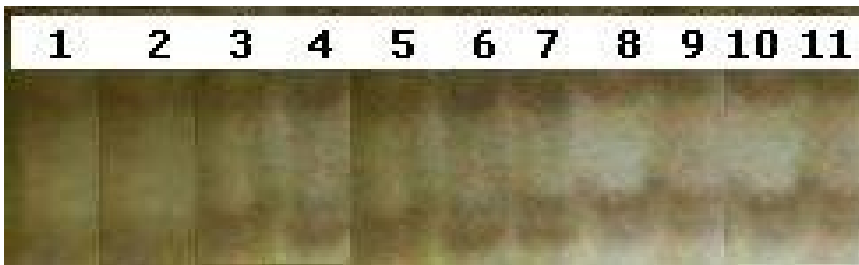
camlar aralarına ayıraç konularak kapatıldı ve klipslerle sıkıştırıldı. %7'lik poliakrilamid jel elektroforez camları arasına döküldü ve polimerizasyon tamamlandıktan sonra jele örnekler yüklendi.

3.4.4. Poliakrilamid jelde gümüş nitrat boyama ile DNA bantlarının görüntülenmesi

Elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra camlar cihazdan çıkarılarak birbirinden ayrıldı ve yapıştırıcı solüsyon ile düz cama yapışmış haldeki jel %10'luk asetik asit solüsyonunda 30 dakika bekletildi. Bu süre sonunda distile su ile çalkalandıktan sonra 30 dakika gümüş nitrat çözeltisi içinde boyama işlemi gerçekleştirildi. Gümüş nitrat uygulamasından sonra bantların görünür hale gelmesi için geliştirici solüsyon içinde çalkalandı ve fiksasyon için asetik asit çözeltisinde bekletildi. Son aşamada distile su ile çalkalanıp kurutuldu (Resim 23, 24).



Resim 23. c.254delT bölgesinin hasta ve kontrollerdeki PCR amplifikasyonunun PCR-SSCP analizi (M=DNA cetveli; 1,2 ve 3 numaralı hasta yürüyüşü diğer hasta ve kontrol gruplarına göre farklı)



Resim 24. p.Leu6Pro bölgesinin hasta ve kontrollerdeki PCR amplifikasyonunun PCR-SSCP analizi (M=DNA cetveli; 1,2 numaralı hastalar diğer hasta ve kontrol gruplarına göre farklı)

3.5. HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

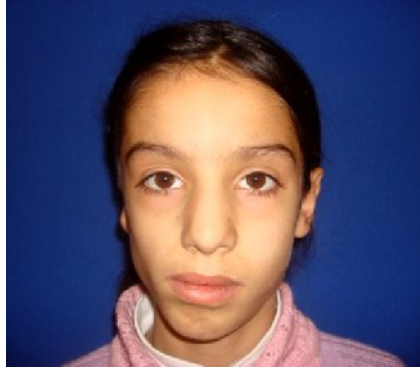
Alınan mikrotik kalıntı kıkırdak ve sağlam kulak kıkırdağı örnekleri %10'luk formaldehit solüsyonunda 48 saat süre ile bekletilerek tespit edilerek en az 3 adet kesit alındı. Daha sonra otomatik takip makinesinde sırası ile alkol ve ksilol solüsyonlarında ve 60 °C sıvı parafin içinde işleme tabi tutularak dehidrasyon ve parafinizasyon işlemleri yapılarak parafin bloklama işlemi yapıldı. Hazırlanan parafin bloklardan mikrotom ile 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler deparafinize edilerek cam slaytlara monte edilip hematoxilen–eozin boyası ile boyandı. Örneklerin incelenmesi için Nikon Eclipse E600 ışık mikroskobu kullanıldı. Preparatlar Nikon Digital Sight DS - L1 fotomikroskop ile incelenerek fotoğraflandırıldı.

4. BULGULAR

Toplam 21 mikrotia hastasından 6'sının (%28.5) ebebeynleri arasında akraba evliliği olduğu tespit edildi. Bu evliliklerin 5'i birinci dereceden kuzen 1'i ise 2. dereceden kuzen olduğu öğrenildi. Bir ailede (%4.7) 2 mikrotia hastası çocuk bulunuyordu. Hastaların 10'unda (%47.6) sol, 8'inde (%38) sağ, 3'ünde (%3) ise iki taraflı mikrotia mevcuttu. Nagata sınıflandırmasına göre 21 hastadan, 15 tip 1 mikrotik kulak (%71), 2'si (%9.5) tip 2, 3'ü (%14.2) tip 3, 1'er tane (%.4) tip 4 ve tip 5 mikrotia bulunmaktaydı. Kliniğimize başvuran 2'si kardeş olmak üzere toplam 21 hastadan 14'ünde (%68) farklı seviyelerde hemifasiyal mikrozomi bulguları bulunuyordu. 1 hastada (%4.7) tip 2 sağ mikrotia ile beraber, ek anomali olarak blefarofimozis, epikantus, basık burun kökü ve yüz, brakiodaktili gibi el ve göz bulguları mevcuttu (hasta no 3). (Resim 25) Bir hasta (hasta no 11) sağ mikrotia, sağ mandibular hipoplazi, servikal ve torakal skolyoz bulguları ile Goldenhar sendromu idi (Resim 26).



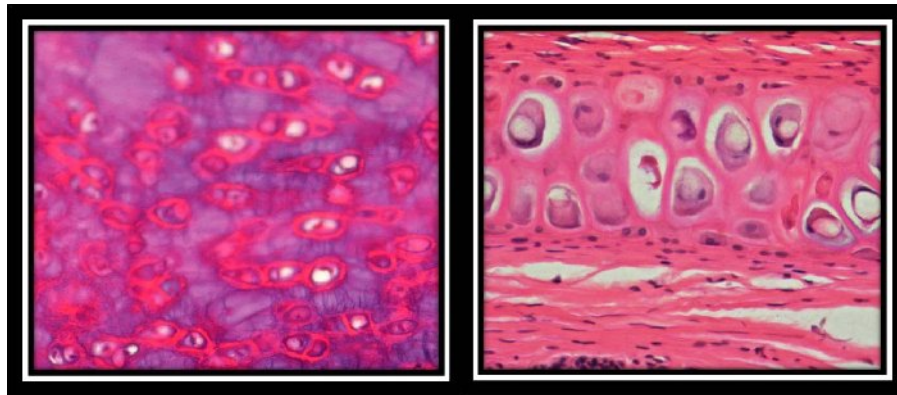
Resim 25. FGF3 c.254delT gen bölgesinde farklılık saptanan hasta. Bilateral mikrotia (üst resimler) dışında blefarofimozis (sol alt) ve brakidaktili (sağ alt) bulguları görülmektedir.



Resim 26. Sağ mikrotialı hastada hemifasiyal mikrozomi görünümü. Aynı hastanın FGF3 geni P.Leu6Pro bölgesinde farklılık saptanmıştır.

21 mikrotik hasta ve 13 mikrotia ailesinde yapılan genetik incelemede, bu hastalardan birinde hem *c.254delT* hem *p.Leu6Pro* bölgelerinde farklılık bulunmak üzere 3 hastada *c.254delT*, 2 hastada *p.Leu6Pro* bölgelerinde farklılık saptandı. FGF3 geninin hem *c.254delT* ve hem *p.Leu6Pro* bölgesinde farklılık saptanan hastada (hasta no 2) tip 3, sağ mikrotia ve yüz sağ alt yarısında asimetri vardı. *c.254delT* bölgesinde farklılık saptanan 3 hastadan birinde (hasta no 3) bilateral mikrotia dışında telekantus, blefarofimozis, brakidaktili, küçük ağız gibi bulgular mevcuttu. Bu hastada ayrıca sol alt ekstremitte lenf nodu komplet obstrüksiyonu olduğu tespit edildi. *p.Leu6Pro* bölgesinde farklılık saptanan hastada ise izole mikrotia mevcuttu (Tablo 5).

İleriki çalışmalarda kullanılmak üzere FGF3 genine ait farklılıkların araştırılması ve gen ekspresyonu düzeyinde analizlerin yapılabilmesi için hastaların hepsinin DNA'sı ve operasyon materyali olarak 15 hastanın kalıntı kıkırdak örnekleri -80 santigrat derece derin dondurucuda bankalanmıştır.



Resim 27. Kalıntı kulak kıkırdağı(sol) ve normal kulak kıkırdağı (sağ) histolojik görüntüsü

Hematoksilen eozinle boyası ile boyanmış kıkırdak örneklerinin ışık mikroskobu 10-20 büyütme incelemelerinde kalıntı kıkırdak ile normal kulak kıkırdağı arasında bir fark saptanmamıştır (Resim 27).

Tablo 5. Hastaların klinik ve laboratuvar bulguları

Hasta No	Yaş/ Cins	Ailede akrabalık/ hastalık	Sağ/sol mikrotia	Mikrotia tipi (Nagata)	FGF3 c.254delT	FGF3 p.Leu6Pro	Ek anomali
1*	10/E	1	-/x	1	X	-	YA
2*	15/E	2	-/x	3	X	X	YA
3*,**	7/K	-	x/x	2	X	-	Göz, el bulguları
4**	7/E	-	x/-	1	-	X	YA
5	10/K	-/ kardeşte mikrotia	x/-	5	-	-	YA
6	14/K	-	x/-	1	-	-	YA
7	6/K	-	-/x	1	-	-	İzole
8	8/E	1	-/x	1	-	-	İzole
9	13/E	-	-/x	1	-	-	YA
10	17/E	-	x/-	3	-	-	YA
11	15/K	1	-/x	1	-	-	YA Vertebra
12	17/E	-	x/x	1/1	-	-	YA, FP
13	10/E	-	-/x	2	-	-	YA
14	19/E	-	-/x	1	-	-	YA
15	9/K	1	-/x	1	-	-	izole
16	8/K	1	x/-	1	-	-	YA
17	15/E	-	x/-	4	-	-	izole
18	10/E	-	-/x	1	-	-	YA
19	11/K	-	x/-	-	-	-	YA, FP
20	13/E	-	x/x	3	-	-	YA
21	1/K	-/ kardeşte mikrotia	x/x	1/1	-	-	izole

1; 1.dereceden kuzen, 2; 2. dereceden kuzen, x/-; sağ mikrotia, -/x; sol mikrotia, x/x; bilateral mikrotia *c.254delT bölgesinde farklılık gösteren birey, **p.Leu6Pro bölgesinde farklılık gösteren birey YA; yüz asimetrisi, FP; fasiyal palsi

TARTIŞMA

Günümüzde mikrotianın etiyolojisi ile ilgili çevresel sebeplerin önemini ortaya koyan ciddi yayınlar olsa da, genetik komponentlerin de en az çevresel koşullar kadar etkili olduğuna inanılmaktadır (92). Ailesel mikrotia, %3 ile 34 arası oranlarda görülmekle birlikte, bilinen bir sendromla ilişkisi bulunmayan, mikrotia ile birlikte farklı klinik bulguların olduğu ailesel olgular da vardır (3,7,9,35). Çalışmamıza dahil ettiğimiz mikrotia hasta grubunda ise bir aile dışında sporadik olgular bulunmaktadır. Mikrotia ile ilişkili farklı sendromlarda hem tek gen bozuklukları hem de kromozomal aberasyonlar rapor edilmiştir (46).

Hemifasiyal mikrozomi ve Goldenhar sendromlarını kapsayan okülo-aurikülo-vertebral spektrumlu hastalarda yapılan genetik çalışmalarda, hastaların %40'ında, fibroblastlarda kraniyofasiyal gelişimden sorumlu olan BAPX1 geninin kodlandığı alleller arasında güçlü ekspresyon farklılıkları olduğu tespit edilmiştir (93). BAPX1 genindeki bu ekspresyonun bu sendromda önemli rol oynayabileceğini desteklese de net olarak mikrotia ile ilişkili bir gen olup olmadığı bilinmemektedir.

Homeobox genleri embriyonik gelişimde transkripsiyon faktörlerini eksprese eden genlerdir. Bu genler geniş bir homeobox gen grubunu içermektedirler (94). Hoxa2 geni, dış ve orta kulağın gelişiminden esas sorumlu olan 2. brankial arkın oluşumunda anahtar transkripsiyon faktörü olarak rol oynamaktadır. Hoxa1 geninin de dış kulağın gelişiminde anahtar rol oynadığı gösterilmiştir (40). Hoxa2 geni inaktive edilmiş farelerde yapılan deneyler; dış ve orta kulak gelişim mekanizmasını anlamamıza yardımcı olmuştur (95-97). Bu farelerde, çene kemiğinin bazı kısımları, oksipital ve orta kulak kemiklerinin var olduğu görülmüştür. Hoxa2 geninin inaktivasyonu sonucunda, ektopik inkus, malleus ve timpanik kemikler gibi iskeletsel elemanlarında var olduğu gösterilmiştir. Otik kapsül de 2. brankial arkın bir parçası olduğundan bu farelerde otik kapsülün bir kısmının da etkilendiği saptanmıştır. Hoxa1 geninin dış kulağın gelişiminde anahtar rol oynadığı bildirilmiştir (40). Hoxa1 geni inaktive edilmiş farelerde

yapılan çalışmalar sonucunda beyin arka kısım segmentinin (rombensefalon) gelişmediği bildirilmiştir (38).

Yapılan bir çalışmada, mikrotia, sensörinöral işitme problemi, kardiyak problemler, otizm bulgularının olduğu 5 ailede Hoxa1 geninde patojenik mutasyonlar olduğu saptanmıştır (42). Bilateral mikrotia, inkomple yarık damak ve işitme anomalisinin olduğu İranlı bir ailede ise Hoxa2 geninde mutasyon gösterilmiştir (43). İranlı ailede yapılan araştırma bize Hoxa2 geninde yer alan mutasyonun dış ve orta kulakla birlikte iç kulak anomalilerine neden olabileceğini işaret etmektedir.

Görüldüğü üzere bulgularından birinin mikrotia olduğu, bilinen sendromlar ya da herhangi bir sendrom sınıfına sokulamayan hastalıklarla ilgili yapılan genetik çalışmalarda baş boyun gelişiminde etkili olması muhtemel bazı gen farklılıkları suçlanmışsa da izole mikrotianın genetik etiyojisi halen bir hipotez olmaktan öteye geçememiştir. Literatür araştırmalarımıza göre, baş ve boyun bölgesinin embriyolojik gelişiminde duraksamalara neden olan belirli gen bölgeleri suçlanmakta olup izole mikrotianın genetik etiyojisini tam olarak ortaya koyan bir çalışmaya rastlamadık.

Alasti ve arkadaşlarının (43) yaptığı çalışmada mikrotia, mikrodonti, Michel aplazisi olarak adlandırılan labirentin aplazisine bağlı sağırılık ile karakterize otozomal dominant geçişli sendromu olan 10 hastada FGF3 geninin homozigot mutasyonları olduğu bildirilmiştir. Fibroblast büyüme faktörü (FGF) hücreler arası sinyal molekülleri ailesinin önemli bir üyesi olup ligand/reseptör kombinasyonu ve embriyonik şartlara bağlı olmak üzere farklı hücresel yanıtlar oluşturma yeteneğine sahiptir. Bu genlerin diferansiyasyon, proliferasyon, hücre göçü, yaşamı, doku indüksiyonu ve morfogenez sırasında ayrılma gibi farklı süreçleri regüle edebildikleri bildirilmiştir (17). FGF sinyalleri yüksek afiniteli fibroblast büyüme faktör reseptörleri (FGFr) üzerinden iletilirken (FGFr 1-4) bu sinyaller düşük afiniteli heparin sülfat proteoglikanları arası etkileşim ile modüle edilir. Chen ve Yamaguchi (98,99), bu özel reseptörlerin memelilerin gelişiminde kritik öneme sahip olduğunu ve bildirmişlerdir. Bu amaçla yaptıkları fare ve tavuk deneylerinde FGFr 1 ve 2'de oluşturulan mutasyon sonucu erken

embriyonik gelişimin durduğunu, FGFr3 mutantlarında da kulakta farklı gelişimsel anomalilerin olduğunu rapor etmişlerdir.

Bu tez çalışmasında 13 mikrotialı hasta ve ailesi ile 7'si ailesiz olmak üzere toplam 21 mikrotia hastasında (1 ailede 2 kardeş hasta olmak üzere); FGF3 geninin önceden mutasyon saptanan (hot spot bölge) 2 bölgesinin mikrotiadan sorumlu olup olmadığı araştırılması amaçlandı. Çalışılan FGF3 genindeki 2 bölgeden 1.cisinde (*c.254delT mutasyonunun bulunduğu DNA dizisi*) 3 hastada farklılık saptanırken, 2. bölgede (*p.Leu6Pro mutasyonunun bulunduğu DNA dizisi*) 2 hastada farklılık gösterilmiş olup, kontrol grubunda her 2 primer bölgesinde de bir farklılık gözlenmemiştir (Resim 23, 24) (Tablo 5). Aynı zamanda kardeşinde mikrotia görülen bir aile de dahil olmak üzere toplam 13 mikrotia ailesinde yapılan analizlerde de aile bireylerinin hiç birisinde bu gen bölgesinde farklılığa rastlanmamıştır. DNA dizi analizi yapılarak saptanan bölgedeki farklılık NCBI datalarında karşılaştırılarak bu bulguların mikrotia ile ilişkili olup olmadığının belirlenmesi gelecekteki çalışmalarda planlanmıştır.

Yaptığımız klinik incelemelerde 21 mikrotia hastasından 7'sinde mikrotia dışında herhangi bir bulguya rastlanmazken 14 hastamızda yüz asimetrisi, vertebral anomali, el anomali, göz bulguları gibi farklı bulgulara rastlandı. FGF3 geninde farklılık saptanan 4 hastadan yalnızca birinde izole mikrotia mevcuttu. FGF3 geni 1. ve 2. DNA bölgelerinden her ikisinde de farklılık saptanan bir hastada bilateral mikrotia ile birlikte telekantus ve buna bağlı psödohipertelorizm, blefarofimozis, brakidaktili, kısa boy, düz yüz görünümü, küçük ağız gibi bulgular bulunmaktaydı. Farklılık görülen 2 hastada ise mikrotia ile beraber sadece yüz asimetrisi vardır.

Hastalarımızın ailesinde akrabalık oranı %28.5 idi. %21 mikrotik hastadan yalnızca 5'inde (%23) mikrotia dışında hiçbir bulgu saptanmazken, 14 hastada (%68) yüz asimetrisi mevcuttu. Bu hastalardan 2'sinde de mikrotik taraf fasiyal sinir bukkal dalında zayıflık saptanırken 1 hastada ise vertebral bulgulara saptanmıştır.

Sonuç olarak 21 mikrotik hastamıza ait klinik veriler ve laboratuvar sonuçlarımız ile hemifasiyal mikrozomiden izole bir hastalık olarak düşünmenin mümkün

olmadığını, ama devam edecek ayrıntılı çalışmalar ile (DNA dizi analizi, yeni genlerin araştırılması vb.) ileride bir sonuç alınabileceğine inanmaktayız.

Mikrotik kulak rekonstrüksiyonunda, kulak çatısının üç boyutlu yapısından dolayı uygun pozisyonda, normal kulak görüntüsünde yeterli projeksiyonlu bir kulak oluşturulması ana hedeftir. Kullanılan birçok yöntemle rağmen bazen sonuçlar yüz güldürücü olmayabilir. Otojen kostal kıkırdak kullanımının en uygun seçenek olduğunu düşünmekteyiz. Uyguladığımız yöntemde 2.seans sonrası genellikle yeterli projeksiyonlu, uygun pozisyonlu bir kulak elde ettik. Kıkırdak çatının skalpten elevasyonu sonrası postauriküler sulkus oluşturulmasında; greft, temporoparietal fasya flepleri ve mastoid bölge rotasyon ve random fasya flepleri kullanılmaktadır. Posterior sulkus oluşturulmasında kullandığımız rotasyon flebi, daha iyi projeksiyon sağlaması, pratik ve hızlı bir prosedür olması, süperfisyal temporal fasya flebine gerek duyulmaması, skarın saçlı deri içerisinde kalması nedeniyle grefte nazaran daha tercih edilebilir olarak gözükmektedir. Ancak bazen skalpte rotasyon flebi insizyon yerinde skar ve alopesik alan oluşturmaktadır. Bu durumda genellikle ek bir işlemle lokal anestezi altında skar revizyonu kolaylıkla yapılabilir.

Literatür araştırmalarımızda daha önce mikrotik kalıntı kıkırdağın histopatolojik incelemesi ile ilgili bir bilgiye rastlamadık. Mikrotik hastalardan aldığımız kalıntı kıkırdakların histopatolojik incelemesinde normal kulak elastik kıkırdağının tüm histolojik özelliklerini bulundurduğunu gördük. Kalıntı kıkırdağın maturasyonunu tamamlaması nedeniyle normal kulak elastik kıkırdağından farklı bir histolojik görüntüde olmadığı saptanmıştır.

İzole mikrotialı hastaların genetik analizine yönelik yapılan bu çalışmamız sonrası bazı veriler elde edilmekle birlikte bu konuda daha detaylı ve geniş çalışma ve araştırmalar yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Mikrotik kulak rekonstrüksiyonunda birçok yöntem tarif edilmiş olmakla birlikte kullandığımız Nagata'nın modifiye edilmiş yöntemi ile iyi bir kulak çatısı elde edilmekle birlikte, uygun bir projeksiyon ve yeterli kulak sulkusu oluşturulmaktadır. Bu yöntemin mikrotik hastalar için en uygun yöntem olduğunu düşünmekteyiz.

İşitme organı olan kulağın gelişiminden birçok gen sorumlu iken, mikrotianın etiyolojisinde rol alabilecek genler hakkında henüz çok az bilgiye sahibiz. Mikrotiaya sebep olan genlerin tanımlanması, insan kraniyofasiyal ve kulak gelişimindeki moleküler mekanizma ile ilgili yeni bilgileri de ortaya koymamıza yardımcı olacaktır. Bu araştırmanın temel amacı mikrotia etiyolojisinde rol alan genlerin polimorfizmini araştırmaktır. Dış ve orta kulak gelişimi şimdiye kadar çok iyi anlaşılamamış olabilir, ama mutantlarda 1. ve 2. brankial arkların etkilendiği ileride yapılacak çalışmalar kulağın bu bölümünün gelişiminin altında yatan moleküler mekanizmalarının aydınlanmasına izin verecektir. Halen geniş ölçekli gen keşiflerine ihtiyaç duyulmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Hunter A G, Yotsuyanagi T. The external ear: more attention to detail may aid syndrome diagnosis and contribute answers to embryological questions. *Am J Med Genet A*. 2005;135:237–50.
2. Harris J, Kallen B, Robert E. The epidemiology of anotia and microtia. *J Med Genet*. 1996;33:809–13.
3. Sanchez O, Mendez JR, Gomez E, Guerra D. Clinico-epidemiologic study of microtia. *Invest Clin*. 1997;38:203–17.
4. Suutarla S, Rautio J, Ritvanen A, Ala-Mello S, Jero J, Klockars T. Microtia in Finland: comparison of characteristics in different populations. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2007;71:1211–17.
5. Rollnick BR, Kaye CI, Nagatoshi K, Hauck W, Martin AO. Oculoauriculovertebral dysplasia and variants: phenotypic characteristics of 294 patients. *Am J Med Genet*. 1987;26:361–75.
6. Shaw GM, Carmichael SL, Kaidarova Z, Harris JA. Epidemiologic characteristics of anotia and microtia in California, 1989-1997. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2004;70:472–5.
7. Castilla EE, Orioli IM. Prevalence rates of microtia in South America. *Int J Epidemiol*. 1986;15:364–8.

8. Forrester MB, Merz RD. Descriptive epidemiology of anotia and microtia, Hawaii, 1986-2002. *Congenit Anom (Kyoto)*. 2005;45:119–24.

9. Okajima H, Takeichi Y, Umeda K, Baba S. Clinical analysis of 592 patients with microtia. *Acta Otolaryngol Suppl*. 1996;52:18–24.

10. Kelley PE, Scholes MA. Microtia and congenital aural atresia. *Otolaryngol Clin North Am*. 2007;40:61–80.

11. Llano-Rivas I, Gonzalez-del Angel A, del Castillo V, Reyes R, Carnevale A. Microtia: A clinical and genetic study at the national institute of pediatrics in Mexico City. *Arch Med Res*. 1999;30:120-24.

12. Mastroiacovo P, Corchia C, Botto LD, Lanni R, Zampino G, Fusco D. Epidemiology and genetics of microtia-anotia: a registry based study on over one million births. *J Med Genet*. 1995;32(6):453–7.

13. Calzolari F, Garani G, Sensi A, Martini A. Clinical and radiological evaluation in children with microtia. *Br J Audiol*. 1999;33:303-12.

14. Kountakis SE, Helidonis E, Jahrsdoerfer RA. Microtia grade as an indicator of middle ear development in aural atresia. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1995;121:885–6.

15. Weerda H. Classification of congenital deformities of the auricle. *Facial Plast Surg*. 1988;5:385–8.

16. Brent B. Microtia repair with rib cartilage grafts: a review of personal experience with 1000 cases. *Clin Plast Surg*. 2002;29:257–71.

17. Powles N, Marshall H, Economou A, Chiang C, Murakami A, Dickson C, et al. Regulatory analysis of the mouse *Fgf3* gene: control of embryonic expression patterns and dependence upon sonic hedgehog (Shh) signalling. *Dev Dyn*. 2004;230(1):44-56.

18. Tekin M, Oztürkmen Akay H, Fitoz S, Birnbaum S, Cengiz FB, Sennaroğlu L, et al. Homozygous *FGF3* mutations result in congenital deafness with inner ear agenesis, microtia, and microdontia. *Clin Genet*. 2008;73(6):554-65. 2008;2.

19. Quesser-Luft A, Stolz G, Wiesel A, et al. Associations between renal malformations and abnormally formed ears analysis of 32,589 newborn features of the Mainz Congenital Birth Defect Monitoring System. XXI David W Smith Workshop on Malformation and Morphogenesis 60: San Diego, CA: 2000

20 Kugelman A, Hadad B, Ben David J, Podoshin L, Borochwitz Z, et al. Preauricular tags and pits in newborn: the role of hearing tests. *Acta Paediatr*. 1997;86:170-2.

21. Tolleth H. Artistic anatomy, dimensions, and proportions of the external ear. *Clin Plast Surg*. 1978;5:337-45.

22. Wells KE, Rapaport DP, Cruse CW. Sentinel lymph node biopsy in melanoma of the head and neck. *Plast Reconstr Surg*. 1997;100:591-4.

23. Wagner JD, Park HM, Coleman JJ, Love C, Hayes JT. Cervical sentinel lymph node biopsy for melanomas of the head and upper thorax. Arch. Otolaryngol Head Neck Surg. 2000;126:313-21.

24. Anson B J, Donaldson J A. Surgical Anatomy of the Temporal Bone, 3rd Ed. Philadelphia: Saunders, 1981.

25. James B Snow, Ashley P Wackym. Ballenger's otorhinolaryngology head and neck surgery (17nd ed). Peoples Medical Publishing House, 2009: 759.

26. Figueroa AA, Friede H. Craniovertebral malformations in hemifacial microsomia. J Craniofac Genet Dev Biol Suppl. 1985;1:167-78.

27. Bennun RD, Mulliken JB, Kaban LB, Murray JE. Microtia: A microform of hemifacial microsomia. Plast Reconstr Surg 1985;76:859-65.

28. Rahbar R, Robson C D, Mulliken J B, et al. Craniofacial, temporal bone and audiologic abnormalities in the spectrum of hemifacial microsomia. Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. 2001;127:265-69.

29. Jahrsdoerfer R A, Garcia E T, Yeakley J W, Jacobson J T Surface contour three-dimensional imaging in congenital aural atresia. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 1993;119:95-102.

30. Zhu J, Wang Y, Liang J, Zhou G. An epidemiological investigation of anotia and microtia in China during 1988-1992. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi*. 2000;35:62–5.
31. Tanzer RC. The constricted (cup and lop) ear. *Plast Reconstr Surg*. 1975;55:406-15.
32. Klockars T, Suutarla S, Kentala E, Ala-Mello S, Rautio J. Inheritance of microtia in the Finnish population. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2007;71:1783–8.
33. Gupta A, Patton MA. Familial microtia with meatal atresia and conductive deafness in five generations. *Am J Med Genet*. 1995;59:238–41.
34. Tasse C, Majewski F, Bohringer S, Fischer S, Ludecke HJ, Gillessen-Kaesbach G, et al. A family with autosomal dominant oculo-auriculo-vertebral spectrum. *Clin Dysmorphol*. 2007;16:1–7.
35. Orstavik KH, Medbo S, Mair IW. Right-sided microtia and conductive hearing loss with variable expressivity in three generations. *Clin Genet*. 1990;38:117–20.
36. Davies AF, Imaizumi K, Mirza G, Stephens RS, Kuroki Y, Matsuno M, et al. Further evidence for the involvement of human chromosome 6p24 in the aetiology of orofacial clefting. *J Med Genet*. 1998;35:857–61.
37. Bee J, Thorogood P. The role of tissue interactions in the skeletogenic differentiation of avian neural crest cells. *Dev Biol*. 1980;78(1):47-62.

38. Lufkin T, Dierich A, LeMeur M, Mark M, Chambon P. Disruption of the Hox-1.6 homeobox gene results in defects in a region corresponding to its rostral domain of expression. *Cell*. 1991;66:1105–19.
39. Gendron-Maguire M, Mallo M, Zhang M, Gridley T. Hoxa-2 mutant mice exhibit homeotic transformation of skeletal elements derived from cranial neural crest. *Cell*. 1993;31;75(7):1317-31.
40. Mark M, Lufkin T, Vonesch JL, Ruberte E, Olivo JC, Dollé P, et al. Two rhombomeres are altered in Hoxa-1 mutant mice. *Development*. 1993;119(2):319-38.
41. Studer M, Gavalas A, Marshall H, Ariza-McNaughton L, Rijli FM, Chambon P, et al. Genetic interactions between Hoxa1 and Hoxb1 reveal new roles in regulation of early hindbrain patterning. *Development*. 1998;125(6):1025-36.
42. Tischfield MA, Bosley TM, Salih MA, Alorainy IA, Sener EC, Nester MJ, et al. Homozygous HOXA1 mutations disrupt human brainstem, inner ear, cardiovascular and cognitive development. *Nat Genet*. 2005;37:1035–7.
43. Alasti F, Sadeghi A, Sanati MH, Farhadi M, Stollar E, Somers T, et al. A mutation in HOXA2 is responsible for autosomal-recessive microtia in an Iranian family. *Am J Hum Genet*. 2008;82:982–91.
44. J McKenzie, J Craig. Mandibulo-facial dysostosis (Treacher Collins syndrome). *Arch Dis Child*. 1955;30:391

45. Lopez-Camelo JS, Orioli IM. Heterogeneous rates for birth defects in Latin America: hints on causality. *Genet Epidemiol.* 1996;13:469–81.
46. Stern RS, Rosa F, Baum C. Isotretinoin and pregnancy. *J Am Acad Dermatol.* 1984;10:851–4.
47. Perez-Aytes A, Ledo A, Boso V, Saenz P, Roma E, Poveda JL, et al. In utero exposure to mycophenolate mofetil: a characteristic phenotype? *Am J Med Genet A.* 2008;146:1–7.
48. Monga M. Vitamin A and its congeners. *Semin Perinatol.* 1997;21:135–42.
49. Fukuda, O. Discussion of congenital deformities of the auricle. In R. C. Tanzer and M. T. Edgerton (Eds.), *Symposium on Reconstruction of the Auricle*, Vol. 10. St. Louis: Mosby, 1974.
50. Hartsfield JK. Review of the etiologic heterogeneity of the oculo-auriculo-vertebral spectrum (Hemifacial Microsomia). *Orthod Craniofac Res.* 2007;10:121–8.
51. Engiz O, Balci S, Unsal M, Ozer S, Oguz KK, Aktas D. 31 cases with oculoauriculovertebral dysplasia (Goldenhar syndrome): clinical, neuroradiologic, audiologic and cytogenetic findings. *Genet Couns.* 2007;18:277–88.

52. MyPACS.net: Radiology Teaching Files Case 867469 Available from: <http://www.mypacs.net/cases/GOLDENHAR-SYNDROME-867469.html>

53. Hao J, Liu Z, Kong W, Wang J. Treacher Collins syndrome: case report and literature review. Lin Chuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi. 2006;20:582–4.

54. eMedicine Specialties Pediatrics: Genetics and Metabolic Disease Genetics Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/946143-media> Mandibulofacial Dysostosis (Treacher Collins Syndrome): Multimedia

55. Emanuel BS, McDonald-McGinn D, Saitta SC, Zackai EH. The 22q11.2 deletion syndrome. Adv Pediatr. 2001;48:39–73.

56. Opitz JM, Mollica F, Sorge G, Milana G, Cimino G, Caltabiano M. Acrofacial dysostoses: review and report of a previously undescribed condition: the autosomal or X-linked dominant Catania form of acrofacial dysostosis. Am J Med Genet. 1993;47:660–78.

57. McDonald MT, Gorski JL. Nager acrofacial dysostosis. J Med Genet. 1993;30:779-82.

58. Rohmann E, Brunner HG, Kayserili H, Uyguner O, Nurnberg G, Lew ED, et al. Mutations in different components of FGF signaling in LADD syndrome. Nat Genet. 2006;38:414–17.

59. Hollister DW, Klein SH, De Jager HJ, Lachman RS, Rimoin DL. The lacrimoauriculo- dento-digital syndrome. *J Pediatr.* 1973;8:438–44.

60. Gill N W. Congenital atresia of the ear: A review of surgical findings in 83 cases. *J Laryngol Otol.* 1969;83:551.

61. Brent B. Technical advances in ear reconstruction with autogenous rib cartilage grafts: Personal experience with 1200 cases. Abstract and presentation at the 78th Annual Meeting of the American Association of Plastic Surgeons. 1999, Colorado Springs, Colo.

62. Brent B. The correction of microtia with autogenous cartilage grafts: I. The classic deformity. *Plast Reconstr Surg.* 1980;66:1-12.

63. Brent B. The correction of microtia with autogenous cartilage grafts: II. Atypical and complex deformities. *Plast Reconstr Surg.* 1980;66:13-21.

64. Brent B, Byrd HS. Secondary ear reconstruction with cartilage grafts covered by axial, random, and free flaps of temporoparietal fascia. *Plast Reconstr Surg.* 1983;72:141.

65. Brent B. Modification of the stages in total reconstruction of the auricle: Parts I to IV (Discussion). *Plast Reconstr Surg.* 1994;93:267.

66. Fox JW, Edgerton MT. The fan flap: an adjunct to ear reconstruction. *Plast Reconstr Surg.* 1976;58(6):663-7.

67. Albrektsson T, Brånemark PI, Jacobsson M, Tjellström A. Present clinical applications of osseointegrated percutaneous implants. *Plast Reconstr Surg*. 1987;79(5):721-31.
68. Vacanti CA, Vacanti JP. Bone and cartilage reconstruction with tissue engineering approaches. *Otolaryngol Clin North Am*. 1994;27:263-67.
69. Saadeh PB, Brent B, Mehrara BJ. Human cartilage engineering: Chondrocyte extraction, proliferation, and characterization for construct development. *Ann Plast Surg*. 1999;42:509-16.
70. Rodriguez A, Cao YL, Ibarra C, et al. Characteristics of cartilage engineered from human pediatric auricular cartilage. *Plast Reconstr Surg*. 1999;103:1111-18.
71. Tanzer R C. Total reconstruction of the auricle: The evolution of a plan of treatment. *Plast Reconstr Surg*. 1971;47:523-27.
72. Adamson JE, Horton CE, Crawford HH. The growth patterns of the external ear. *Plast Reconstr Surg*. 1965;36:466-74
73. Brent B. Auricular repair with autogenous rib cartilage grafts: Two decades of experience with 600 cases. *Plast Reconstr Surg*. 1992;90:355-61.
74. Tanzer RC. Microtia: A long-term follow-up of 44 reconstructed auricles. *Plast Reconstr Surg*. 1978;61:161-74.

75. Nagata S. A new method of total reconstruction of the auricle for microtia. *Plast Reconstr Surg*. 1993;92:187-201.

76. Nagata S. Modification of the stages in total reconstruction of the auricle: Part I. Grafting the three-dimensional costal cartilage framework for lobule type microtia. *Plast Reconstr Surg*. 1994;93:221-30.

77. Nagata S. Modification of the stages in total reconstruction of the auricle: Part II. Grafting the three-dimensional three-dimensional costal cartilage framework for concha type microtia. *Plast Reconstr Surg*. 1994;93:231-42.

78. Nagata S. Modification of the stages in total reconstruction of the auricle: Part III. Grafting the three-dimensional costal cartilage framework for small concha- type microtia. *Plast Reconstr Surg*. 1994;93:243-53.

79. Nagata S. Modification of the stages in total reconstruction of the auricle: Part IV. Ear elevation for the constructed auricle. *Plast Reconstr Surg*. 1994;93:254-60.

80. Nagamizu H, Nagata S. Minimization of postoperative complications and problems at the donor site after costal cartilage resection. In K. Harii (Ed.), *Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery*. Amsterdam/ New York: Kugler Publications. 1995;423-424

81. Ohara K, Nakamura K, Ohta E. Chest wall deformities and thoracic scoliosis after costal cartilage graft harvesting. *Plast Reconstr Surg*. 1997;99(4):1030-6.

82. Somers T, De Cubber J, Govaerts P. Total auricular repair: Bone anchored prosthesis or plastic reconstruction? *Acta Otorhinolaryngol Belg.* 1998;52:317-23.

83. Tolman DE, Tjellstrom A, Woods JE. Reconstructing the human face by using the tissue-integrated prosthesis. *Mayo Clin Proc.* 1998;73:1171-78.

84. Reinisch J. Microtia reconstruction using a polyethylene implant: An eight year surgical experience. Abstract and presentation at the 78th Annual Meeting the American Association of Plastic Surgeons Colo, 5;1999;Colorado Springs.

85. Fisher J, Yang WY. Experimental tissue molding for soft-tissue reconstruction: preliminary report. *Plast Reconstr Surg.* 1988;82:857-61.

86. Walton RL, Chick LR, Brown RE. Creation of a vascularized alloplast. *Plast Surg.* 1988;Forum IX:160.

87. Kim WS, Vacanti JP, Cima L. Cartilage engineered in predetermined shapes employing cell transplantation on synthetic biodegradable polymers. *Plast Reconstr Surg.* 1994;94:233-41.

88. Paige K T, Cima L G, Yaremchuk M J. De novo cartilage generation using calcium alginate chondrocyte constructs. *Plast Reconstr Surg.* 1996;97:168-72.

89. Minas T, Nehrer S. Current concepts in the treatment of articular cartilage defects. *Orthopedics.* 1997;20:525-31.

90. Prantl L, Ashary I, Eisenmann-Klein M, Schwarze H. Modification of the second stage of auricular elevation in Nagata's technique for treating microtia. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*. 2007;41(3):109-13.
91. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988;16:1215-24.
92. Cremers CW. Meatal atresia and hearing loss. Autosomal dominant and autosomal recessive inheritance. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 1985;8:211-13.
93. Fischer S, Ludecke HJ, Wieczorek D, Bohringer S, Gillesen-Kaesbach G, Horsthemke B. Histone acetylation dependent allelic expression imbalance of BAPX1 in patients with the oculo-auriculo-vertebral spectrum. *Hum Mol Genet*. 2006;15:581-7.
94. Couly G, Grapin-Botton A, Coltey P, Ruhin B, Le Douarin NM. Determination of the identity of the derivatives of the cephalic neural crest: incompatibility between Hox gene expression and lower jaw development. *Development*. 1998;125:3445-59.
95. Rijli FM, Mark M, Lakkaraju S, Dierich A, Dolle P, Chambon P. A homeotic transformation is generated in the rostral branchial region of the head by disruption of Hoxa-2, which acts as a selector gene. *Cell*. 1993;75:1333-49.
96. Gendron-Maguire M, Mallo M, Zhang M, Gridley T. Hoxa-2 mutant mice exhibit homeotic transformation of skeletal elements derived from cranial neural crest. *Cell*. 1993;75:1317-31.

97. O’Gorman S. Second branchial arch lineages of the middle ear of wild-type and Hoxa2 mutant mice. *Dev Dyn*. 2005;234:124–31.
98. Yamaguchi TP, Harpal K, Henkemeyer M, Rossant J. Fgfr-1 is required for embryonic growth and mesodermal patterning during mouse gastrulation. *Genes Dev*. 1994 15;8(24):3032-44.
99. Chen L, Adar R, Yang X, Monsonogo EO, Li C, Hauschka PV, Yayon A, Deng CX. Gly369Cys mutation in mouse FGFR3 causes achondroplasia by affecting both chondrogenesis and osteogenesis. *J Clin Invest*. 1999;104(11):1517-25.

8. EKLER

BİLGİLENDİRİLMİŞ ONAM FORMU

Biyolojik Örnek Bankaları : Hücre, doku, DNA, cDNA gibi biyolojik örneklerin arşivlendiği ve bu örneklerle ilgili bilgilerin veri tabanlarında saklanarak gelecekteki çalışmalarda kullanılmak üzere uzun süreli korunduğu altyapılardır.

DNA/Doku Bankası ve Gen Araştırmaları Laboratuvarı TÜBİTAK tarafından desteklenen ve özellikle nadir görülen kalıtsal hastalıklarda biyomedikal ve biyoteknolojik çalışmalara altyapı oluşturmak üzere biyolojik örneklerin (DNA, hücre, doku ..vb.) ve bilgilerin uzun süre saklandığı bir AR-GE kolaylık birimidir.

Kişisel Bilgilerin Korunması

- Size ait kişisel ve tıbbi bilgiler **şifreli** bir bilgisayarda korunacaktır ve bu bilgisayara erişim sadece banka çalışanları tarafından mümkündür.
- Biyolojik örnekler **kodlanarak** saklanacaktır; isim soyadı gibi bilgiler laboratuvar ortamında kullanılmayacaktır.
- Kişisel ve tıbbi bilgileriniz işyeri, eğitim kurumu ve sigorta şirketi gibi üçüncü şahıslara aktarılmayacaktır.

Örneklerin kullanımı

- Sizden alınan örnekler **10 yıl** süreyle saklanacaktır.
- Örnek bankalama şu anda size veya ailenize bir tanı hizmeti vermeyebilir, ancak uzun vadede hastalığınızla ilgili elde edilebilecek moleküler ve patofizyolojik bilgiler size ve bu hastalıkla etkilenmiş diğer kişi ve ailelere **yarar** sağlayacaktır.
- Bankalanan örnekler, yalnızca Doktorunuza imza karşılığında **araştırma** veya **tanı** amaçlı olarak verilebilir.
- Örnekler araştırma amaçlı kullanıldığı durumda kişisel ve tıbbi bilgileriniz gizli tutulacaktır.
- Biyolojik örnek bankalama sistemi gönüllülük esasına dayalıdır. Örneklerin bankalanması süresi içerisinde, onayınızı ve biyolojik örneğinizi çekme hakkına sahipsiniz.
- Kararınızdan önce sizlere verilen bu bilgileri lütfen okuyun.
- Sorularınız için 0-342312-305 2455 no' lu telefondan bilgi alabilirsiniz.
- Katılmayı kabul ettiğiniz takdirde sizden 10-20 cc kan alınacaktır.
- Katılmayı kabul ettiğiniz takdirde lütfen bu formu imzalayınız.

Yukarıdaki bilgileri okudum/DNA-Doku Bankası amaç ve içeriği hakkında açıklamalar yapıldı. Örnek vermeyi kabul ediyorum :

İsim, Soyadı, İmza (Katılımcı /Hasta/Ebeveyn)

Tarih

Katılımcıya yukarıdaki bilgiler sözel olarak verilmiş, DNA/Doku Bankası amaç ve içeriği açıklanmıştır.

İsim, Soyadı, İmza (Doktor)

Tarih

Not : Bu bilgilendirilmiş onam formu Avrupa Komisyonu EuroBioBank Proje Konsorsiyumu çalışmaları temel alınarak hazırlanmıştır.

Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi Binası, A Kapısı, 2.Kat, 06100, Sıhhiye, Ankara

**GAZÜ DNA/DOKU BANKASI VE
GEN ARAŞTIRMALARI LABORATUVARI
DNA ÖRNEKLEME BİLGİ FORMU**

ÖRNEK SAHİBİNİN

Adı:

Soyadı:

Doğum tarihi: / /19

Doğum yeri:

Cinsiyeti: E ☐ K ☐

Adres :

Telefon :

Anne Baba arasında akrabalık : Var ☐ Yok ☐

Derecesi : Birinci Kuzen ☐ İkinci Kuzen ☐ Uzak Akraba ☐

Büyükanne ve Büyükbabanın doğduğu yer:

Annenin annesi:

Babanın annesi:

Annenin babası:

Babanın babası:

Örnek Tarihi:

Tanı:

Kalıtım Şekli:

Otosomal dominant ☐

Otosomal resesif ☐

X' e bağlı dominant ☐

X'e bağlı resesif ☐

Maternal ☐

Ailevi ☐

Bilinmiyor ☐

Örnek:

Kan: EDTA ☐

ACD ☐

Doku :

Kas ☐

Fibroblast ☐

Örneği gönderen doktorun:

Adı:

Soyadı :

İmza :

Bölüm:

Telefon:

Örneği teslim alanın:

Adı:

Soyadı:

İmza :

Deep freeze kodu:

Not: